

Traduzione del testo del brevetto europeo

No. 4 027 983

a nome: Adverum Biotechnologies, Inc.

a: Redwood City, CA 94063 / USA

dal titolo: Trattamento di malattie neovascolari oculari usando varianti di AAV2
che codificano aflibercept.

DESCRIZIONE

Campo

La presente divulgazione riguarda il campo delle composizioni farmaceutiche per l'uso in metodi di trattamento di malattia e disturbi neovascolari oculari.

Sfondo

La degenerazione maculare legata all'età (DMLE) è una malattia oculare degenerativa che colpisce la macula, una piccola area sensibile alla luce al centro della retina che è responsabile della lettura e della vista fine. Le condizioni che colpiscono la macula riducono la vista centrale al contempo lasciando intatta la vista periferica. Nei casi gravi, la malattia può portare a cecità centrale. DMLE è una causa rilevante di perdita della vista nella popolazione statunitense fra le persone di 65 anni di e più vecchie, e la prevalenza stimata di eventuale DMLE fra le persone di età di oltre 40 anni è di

approssimativamente il 6,5% (Klein et al., (2011) Arch Ophthalmol, 129(1):75-80). La DMLE neovascolare o essudativa o umida (nAMD, wAMD o nwAMD) è una forma avanzata di DMLE. Il segno distintivo della wAMD è una neovascolarizzazione coroideale (CNV, Choroidal NeoVascularization), che è l'infiltrazione di vasi sanguigni anomali nella retina dallo strato coroideale sottostante, che dà come risultato un danno alle cellule retiniche e cecità centrale. Questo processo angiogenico anomalo è modulato da fattori di crescita, in particolare, dal fattore di crescita dell'endotelio vascolare (VEGF, Vascular Endothelial Growth Factor). Lo standard di cura della wAMD è una classe di molecole che si legano a e sequestrano il VEGF, come ranibizumab (Lucentis) e aflibercept (Eylea).

La retinopatia diabetica (DR) è una complicanza rilevante del diabete mellito, ed è un'importante causa di perdita della vista nella popolazione in età lavorativa. La DR può essere DR non proliferativa (NPDR), con nessuna nuova crescita di vasi sanguigni, oppure proliferativa (PDR), con nuova crescita anomala di vasi sanguigni all'interno della retina o della coroide. L'edema maculare diabetico (EMD) è una complicanza della DR, ed è un altro esempio di una malattia oculare che colpisce la macula. L'EMD colpisce fino al 10% delle persone con diabete ed è causato da un accumulo di fluido nella macula. L'EMD è la causa più frequente di perdita della visione nelle persone con DR. Terapie disponibili per trattare EMD includono il laser e farmaci anti-fattore di crescita dell'endotelio vascolare (anti-VEGF) come aflibercept.

Aflibercept è una proteina di fusione ricombinante che agisce come recettore esca per i sottotipi A e B del fattore di crescita dell'endotelio vascolare (VEGF-A e VEGF-B) e per il fattore di crescita placentare (PGF). Legandosi a

questi ligandi, aflibercept è in grado di prevenire che essi si leghino a recettori del fattore di crescita dell'endotelio vascolare (VEGFR, Vascular Endothelial Growth Factor Receptor), VEGFR-1 e VEGFR-2, per sopprimere la neovascolarizzazione e diminuire la permeabilità vascolare. Aflibercept consiste nel dominio 2 di VEGFR-1 e nel dominio 3 di VEGFR-2 fusi con il frammento Fc di IgG1.

Gli attuali agenti anti-VEGF standard di cura, come aflibercept, necessitano di essere ri-somministrati tramite iniezione intravitreale (IVT) ogni da 4 a 8 settimane per conseguire esiti terapeutici ottimali e mantenere l'acuità visiva. La compliance a tale regime è gravosa per i pazienti, i loro accuditori, e il sistema sanitario, e la maggior parte dei pazienti, nel tempo, non rispetta la compliance al regime ottimale, il che si correla a perdita della vista (Khanani AM, *et al.*). In aggiunta, vi complicanze inclusi endoftalmite, distacchi retinici, cataratta traumatica e pressione intraoculare (IOP, IntraOcular Pressure) elevata; è verosimile che i rischi di queste complicanze vengano aumentati con iniezioni IVT ripetute (Falavarjani et al., (2013) *Eye (Lond)*, 27(7):787-794).

Pertanto, vi è la necessità nell'arte di terapie per malattie neovascolari oculari come wAMD, DR o EMD che siano efficaci, riducano il rischio di effetti avversi, e siano suscettibili di garantire un'alta compliance a lungo termine da parte del paziente.

Sommario dell'invenzione

La presente invenzione fornisce una dose unitaria di particelle di virus adeno-associato ricombinante (rAAV) per l'uso come definito nelle

rivendicazioni allegate alla presente. Altri aspetti dell'invenzione sono anch'essi definiti nelle rivendicazioni allegate alla presente.

Divulgazione tecnica di riferimento

La divulgazione tecnica di riferimento esposta nel seguito può per alcuni aspetti andare oltre l'invenzione di per sé come riassunta sopra, e così può anche fornire uno sfondo tecnico per sviluppi tecnici correlati, come può essere illustrato *tra l'altro* negli esempi. La divulgazione tecnica di riferimento esposta nel seguito fornisce informazioni tecniche di sfondo e non è intesa definire l'invenzione come tale, ma piuttosto a facilitare la comprensione e l'attuazione dell'invenzione, collocandola al contempo in un contesto tecnico. Qualsiasi riferimento a metodi di trattamento mediante terapia o chirurgia o a metodi di diagnosi *in vivo* in questa descrizione deve essere interpretato come riferimenti a composti, composizioni farmaceutiche e medicinali della presente invenzione per l'uso in quei metodi.

Descritto nel presente contesto è un metodo per trattare una malattia neovascolare oculare in un individuo, il metodo comprendendo somministrare una dose unitaria di circa 6×10^{11} genomi di vettore (vg) o meno di particelle di virus adeno-associato ricombinante (rAAV) a un occhio dell'individuo, in cui l'individuo è un essere umano, e in cui le particelle di rAAV comprendono: (a) un acido nucleico codificante un polipeptide comprendente una sequenza di amminoacidi con almeno circa il 95% di identità con la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 35 e fiancheggiato da ripetizioni terminali invertite (ITR, Inverted Terminal Repeat) di AAV2, e (b) una proteina di capsida di AAV2 comprendente, o consistente in, una sequenza di amminoacidi LGETTRP (ID di SEQ n. 14) inserita tra le posizioni 587 e 588 della proteina di capsida, in cui la

numerazione dei residui di amminoacidi corrisponde a una proteina di capsida VP1 di AAV2. In alcuni casi, il metodo comprende la riduzione del fluido retinico in un occhio dell'individuo.

In un altro caso, descritto nel presente contesto è un metodo per ridurre fluido retinico in un occhio di un individuo con una malattia neovascolare oculare, il metodo comprendendo somministrare una dose unitaria di particelle di rAAV a un occhio dell'individuo, in cui l'individuo è un essere umano, e in cui le particelle di rAAV comprendono: (a) un acido nucleico codificante un polipeptide comprendente una sequenza di amminoacidi con almeno circa il 95% di identità con la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 35 e fiancheggiato da ripetizioni terminali invertite (ITR) di AAV2, e (b) una proteina di capsida di AAV2 comprendente, o consistente in, una sequenza di amminoacidi LGETTRP (ID di SEQ n. 14) inserita tra le posizioni 587 e 588 della proteina di capsida, in cui la numerazione dei residui di amminoacidi corrisponde a una proteina di capsida VP1 di AAV2. In alcuni casi, l'individuo ha ricevuto almeno un trattamento di un agente anti-VEGF nelle ultime 12 settimane circa antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, la quantità o presenza di fluido retinico nell'occhio dell'individuo è refrattaria a un antecedente trattamento con un agente anti-VEGF. In alcuni casi, l'agente anti-VEGF è aflibercept. In alcuni casi, il fluido retinico nell'occhio è ridotto di almeno circa il 60%. In alcuni casi, il fluido retinico nell'occhio è ridotto di circa l'80% in confronto al livello di fluido retinico nell'occhio dell'individuo antecedentemente a una somministrazione del rAAV all'individuo. In alcuni casi, il fluido retinico è fluido sottoretinico (SRF, SubRetinal Fluid) o fluido intraretinico (IRF, IntraRetinal Fluid). In alcuni casi, la

dose unitaria di particelle di rAAV è circa 6×10^{11} genomi di vettore per occhio (vg/occhio) o meno.

In un altro caso, nel presente contesto è descritto un metodo per trattare una malattia neovascolare oculare in un individuo, il metodo comprendendo: (a) somministrare un agente anti-VEGF a un occhio dell'individuo; e (b) somministrare una dose unitaria di circa 6×10^{11} genomi di vettore (vg) o meno di particelle di virus adeno-associato ricombinante (rAAV) all'occhio dell'individuo dopo una somministrazione dell'agente anti-VEGF, in cui l'individuo è un essere umano, e in cui le particelle di rAAV comprendono: (i) un acido nucleico codificante un polipeptide comprendente una sequenza di amminoacidi con almeno circa il 95% di identità con la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 35 e fiancheggiato da ripetizioni terminali invertite (ITR) di AAV2, e (ii) una proteina di capsida di AAV2 comprendente una sequenza di amminoacidi LGETTRP (ID di SEQ n. 14) inserita tra le posizioni 587 e 588 della proteina di capsida, in cui la numerazione dei residui di amminoacidi corrisponde a una proteina di capsida VP1 di AAV2. In alcuni casi, il metodo comprende somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio dell'individuo circa 1 settimana o circa 7 giorni dopo una somministrazione dell'agente anti-VEGF. In alcuni casi, il metodo comprende somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio dell'individuo da circa 1 settimana a circa 2 settimane dopo una somministrazione dell'agente anti-VEGF. In alcuni casi, il metodo comprende somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio dell'individuo circa 1 giorno, circa 2 giorni, circa 3 giorni, circa 4 giorni, circa 5 giorni, circa 6 giorni, circa 7 giorni, circa 8 giorni, circa 9 giorni, circa 10 giorni, circa 11 giorni, circa 12 giorni, circa 13 giorni,

circa 14 giorni, o circa 15 giorni dopo una somministrazione dell'agente anti-VEGF. In alcuni casi, il metodo comprende somministrare l'agente anti-VEGF all'occhio dell'individuo il Giorno 1, e somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio dell'individuo il Giorno 8. In alcuni casi, l'agente anti-VEGF comprende aflibercept. In alcuni casi, l'aflibercept è somministrato a una dose di circa 2 mg mediante iniezione intravitreale. In alcuni casi, il metodo comprende inoltre somministrare un trattamento con steroide topico. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico è un trattamento con difluprednato. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico comprende circa quattro somministrazioni di steroide topico al giorno per circa quattro settimane, seguite da circa tre somministrazioni di steroide topico al giorno per circa una settimana, seguite da circa due somministrazioni di steroide topico al giorno per circa una settimana, e seguite da circa una somministrazione di steroide topico al giorno per circa una settimana; la tempistica iniziando con e seguente una somministrazione dell'agente anti-VEGF. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico comprende circa quattro somministrazioni di steroide topico al giorno per circa un mese, seguite da circa tre somministrazioni di steroide topico al giorno per circa un mese, seguite da circa due somministrazioni di steroide topico al giorno per circa un mese, e seguite da circa una somministrazione di steroide topico al giorno per circa un mese; la tempistica iniziando con e seguente una somministrazione dell'agente anti-VEGF. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico comprende circa quattro somministrazioni di steroide topico al giorno per circa un mese, seguite da circa tre somministrazioni di steroide topico al giorno per circa un mese, seguite da circa due somministrazioni di steroide topico al giorno per circa un mese, e

seguite da circa una somministrazione di steroide topico al giorno per circa un mese; la tempistica iniziando con e seguente una somministrazione delle particelle di rAAV. In alcuni casi, lo steroide topico comprende difluprednato allo 0,05% a una dose da circa 1 µg a circa 3 µg. In alcuni casi, lo steroide topico comprende difluprednato allo 0,05% a una dose di circa 2,5 µg.

In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi dei casi precedenti, la dose unitaria di particelle di rAAV è da circa 6×10^{10} a circa 2×10^{11} genomi di vettore per occhio (vg/occhio). In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è circa 2×10^{11} o circa 6×10^{10} genomi di vettore per occhio (vg/occhio). In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi dei casi precedenti, la dose unitaria di particelle di rAAV è tra circa 6×10^{10} e circa 6×10^{11} genomi di vettore per occhio (vg/occhio). In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi dei casi precedenti, la dose unitaria di particelle di rAAV è tra circa 6×10^{10} e circa 2×10^{11} genomi di vettore per occhio (vg/occhio). In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi dei casi precedenti, la dose unitaria di particelle di rAAV è tra circa 2×10^{11} e circa 6×10^{11} genomi di vettore per occhio (vg/occhio). In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è circa 2×10^{11} o circa 6×10^{10} genomi di vettore per occhio (vg/occhio). In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è di circa 2×10^{11} vg/occhio. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è di circa 6×10^{11} vg/occhio.

In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi dei casi precedenti, l'individuo ha uno o più sintomi di una malattia neovascolare oculare nell'occhio controlaterale.

In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi dei casi precedenti, i metodi descritti nel presente contesto comprendono inoltre

somministrare una dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio controlaterale dell'individuo. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio controlaterale è fino a circa 2 settimane dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio controlaterale è nello stesso giorno della somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio; o la somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio controlaterale è tra circa 1 giorno e circa 14 giorni dopo avere somministrato la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio controlaterale dell'individuo comprende gli stessi o meno genomi di vettore per occhio (vg/occhio) rispetto alla dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio dell'individuo. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio controlaterale è almeno circa 2 settimane dopo la somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio controlaterale dell'individuo comprende più genomi di vettore per occhio (vg/occhio) rispetto alla dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio dell'individuo.

In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi dei casi precedenti, l'acido nucleico comprende la sequenza di acido nucleico di ID di SEQ n. 40 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa.

In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi dei casi precedenti, il polipeptide comprende la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 35. In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi dei casi

precedenti, il polipeptide comprende la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 41. In alcuni casi, il polipeptide è aflibercept.

In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi dei casi precedenti, l'acido nucleico comprende inoltre una prima regione potenziatrice, una regione promotrice, una regione 5'UTR, una seconda regione potenziatrice, e un sito di poliadenilazione. In alcuni casi, l'acido nucleico comprende, nell'ordine da 5' a 3': (a) una prima regione potenziatrice; (b) una regione promotrice; (c) una regione 5'UTR; (d) un acido nucleico codificante un polipeptide comprendente una sequenza di amminoacidi con almeno circa il 95% di identità con la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 35; (e) una seconda regione potenziatrice; e (f) un sito di poliadenilazione; e fiancheggiato da ripetizioni terminali invertite (ITR) di AAV2. In alcuni casi, la prima regione potenziatrice comprende una sequenza CMV comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 22 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa. In alcuni casi, la regione promotrice comprende una sequenza CMV comprendente la sequenza di ID di SEQ n.: 23 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa. In alcuni casi, l'acido nucleico codificante un polipeptide comprende la sequenza di acido nucleico di ID di SEQ n. 40 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa. In alcuni casi, il polipeptide comprende la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 35 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa. In alcuni casi, il polipeptide comprende la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 41 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa. In alcuni casi, il polipeptide è aflibercept. In alcuni casi, la regione 5'UTR comprende, in un ordine da 5' a 3', una sequenza TPL comprendente la sequenza di ID di SEQ n.

24 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa, e una sequenza eMLP comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 25 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa. In alcuni casi, la seconda regione potenziatrice comprende una sequenza EES piena comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 26 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa. In alcuni casi, il sito di poliadenilazione comprende un sito di poliadenilazione di HGH comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 27 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa. In alcuni casi, l'acido nucleico comprende inoltre (a) una prima regione potenziatrice comprendente una sequenza CMV comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 22 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa; (b) una regione promotrice, comprendente una sequenza CMV comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 23 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa; (c) una regione 5'UTR comprendente, in un ordine da 5' a 3', una sequenza TPL comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 24 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa, e una sequenza eMLP comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 25 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa; (d) una seconda regione potenziatrice comprendente una sequenza EES piena comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 26 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa; e (e) un sito di poliadenilazione di HGH comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 27 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa. In alcuni casi, l'acido nucleico comprende ITR di AAV che fiancheggiano gli elementi.

In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi dei casi precedenti, l'acido nucleico comprende la sequenza di ID di SEQ n. 39 o una

sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa.

In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi dei casi precedenti, le particelle di rAAV comprendono una proteina di capsida VP1 di AAV2 comprendente un'ansa GH che comprende la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 38 o una sequenza di amminoacidi avente almeno il 90% di identità di sequenza con ID di SEQ n. 38. In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono una proteina di capsida VP1 di AAV2 comprendente un'ansa GH che comprende una sequenza di amminoacidi avente qualsiasi tra almeno il 90%, almeno il 91%, almeno il 92%, almeno il 93%, almeno il 94%, almeno il 95%, almeno il 96%, almeno il 97%, almeno il 98%, almeno il 99%, o il 100% di identità di sequenza con ID di SEQ n. 38.

In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi dei casi precedenti, le particelle di rAAV comprendono una proteina di capsida VP1 di AAV2 comprendente la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 37 o una sequenza di amminoacidi avente almeno il 90% di identità di sequenza con ID di SEQ n. 37. In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono una proteina di capsida VP1 di AAV2 comprendente una sequenza di amminoacidi avente qualsiasi tra almeno il 90%, almeno il 91%, almeno il 92%, almeno il 93%, almeno il 94%, almeno il 95%, almeno il 96%, almeno il 97%, almeno il 98%, almeno il 99%, o il 100% di identità di sequenza con ID di SEQ n. 37.

In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi dei casi precedenti, la proteina di capsida di AAV2 comprende la, o consiste nella, sequenza di amminoacidi LGETTRP (ID di SEQ n. 14) inserita tra le posizioni 587 e 588 della VP1 di AAV2 comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 13. In alcuni casi, la proteina di capsida di AAV2 comprende la sequenza di

amminoacidi LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1) inserita tra le posizioni 587 e 588 della proteina di capsida, in cui la numerazione dei residui di amminoacidi corrisponde a una proteina di capsida VP1 di AAV2. In alcuni casi, la proteina di capsida di AAV2 comprende la sequenza di amminoacidi LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1) inserita tra le posizioni 587 e 588 della VP1 di AAV2 comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 13. In alcuni casi, la proteina di capsida di AAV2 comprende la sequenza di amminoacidi LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1) inserita tra le posizioni 587 e 588 della proteina di capsida, in cui la numerazione dei residui di amminoacidi corrisponde a una proteina di capsida VP1 di AAV2. In alcuni casi, la proteina di capsida di AAV2 comprende la sequenza di amminoacidi LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1) inserita tra le posizioni 587 e 588 della VP1 di AAV2 comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 13.

In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi dei casi precedenti, la somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale è mediante somministrazione intravitreale.

In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi dei casi precedenti, la dose unitaria di particelle di rAAV è in una formulazione farmaceutica. In alcuni casi, la formulazione farmaceutica comprende le particelle di rAAV, cloruro di sodio, fosfato di sodio e un tensioattivo. In alcuni casi, la formulazione farmaceutica comprende da circa 150 a circa 200 mM di cloruro di sodio, da circa 1 a circa 10 mM di fosfato di sodio monobasico, da circa 1 a circa 10 mM di fosfato di sodio dibasico, da circa lo 0,0005% (p/v) a circa lo 0,005% (p/v) di polossamero 188 e da circa 6×10^{13} a circa 6×10^{10} genomi di vettore (vg) per ml (vg/ml) delle particelle di rAAV, in cui la

formulazione farmaceutica ha un pH da circa 7,0 a circa 7,5. In alcuni casi, la formulazione farmaceutica comprende circa 180 mM di cloruro di sodio, circa 5 mM di fosfato di sodio monobasico, circa 5 mM di fosfato di sodio dibasico, circa 6×10^{12} vg/ml delle particelle di rAAV e circa lo 0,001% (p/v) di polossamero 188, in cui la formulazione farmaceutica ha un pH di circa 7,3. In alcuni casi, la formulazione farmaceutica comprende circa 180 mM di cloruro di sodio, circa 5 mM di fosfato di sodio monobasico, circa 5 mM di fosfato di sodio dibasico, circa 2×10^{12} vg/ml delle particelle di rAAV, e circa lo 0,001% (p/v) di polossamero 188, in cui la formulazione farmaceutica ha un pH di circa 7,3. In alcuni casi, la formulazione farmaceutica comprende circa 180 mM di cloruro di sodio, circa 5 mM di fosfato di sodio monobasico, circa 5 mM di fosfato di sodio dibasico, circa 6×10^{11} vg/ml delle particelle di rAAV, e circa lo 0,001% (p/v) di polossamero 188, in cui la formulazione farmaceutica ha un pH di circa 7,3.

In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi dei casi precedenti, la dose unitaria di particelle di rAAV comprende un volume da circa 25 μ l a circa 250 μ l. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV comprende un volume di circa 100 μ l. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV comprende un volume di circa 30 μ l. In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi dei casi precedenti, la dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio e/o all'occhio controlaterale comprende un volume da circa 25 μ l a circa 250 μ l. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio e/o all'occhio controlaterale comprende un volume di circa 100 μ l. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio e/o all'occhio controlaterale comprende un volume di circa 30 μ l.

In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi dei casi precedenti, l'individuo ha ricevuto un trattamento antecedente per la malattia neovascolare oculare con un agente anti-VEGF. In alcuni casi, l'individuo ha ricevuto 1 o 2 iniezioni di un agente anti-VEGF nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale antecedentemente a una somministrazione delle particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, l'individuo non ha ricevuto un trattamento antecedente per la malattia neovascolare oculare con un agente anti-VEGF. In alcuni casi, l'agente anti-VEGF è aflibercept.

In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi dei casi precedenti, la malattia neovascolare oculare è degenerazione maculare legata all'età (DMLE) umida, neovascolarizzazione retinica, neovascolarizzazione coroideale, retinopatia diabetica, retinopatia diabetica proliferativa, occlusione della vena retinica, occlusione della vena retinica centrale, occlusione della vena retinica di branca, edema maculare diabetico, ischemia retinica diabetica, retinopatia ischemica, edema retinico diabetico, o qualsiasi combinazione di essi.

In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi dei casi precedenti, la dose unitaria di particelle di rAAV è somministrata in combinazione con trattamento con steroide. In alcuni casi, il trattamento con steroide è un trattamento con corticosteroide. In alcuni casi, il trattamento con steroide è un trattamento con steroide sistemico. In alcuni casi, il trattamento con steroide è un trattamento con steroide orale. In alcuni casi, il trattamento con steroide è un trattamento con prednisone. In alcuni casi, il trattamento con prednisone orale comprende somministrare prednisone a una dose di circa 60 mg al giorno per un totale di 6 giorni a partire da 3 giorni prima di una

somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale, seguito dal somministrare prednisone a una dose di circa 40 mg al giorno per un totale di 3 giorni, seguito dal somministrare prednisone a una dose di circa 20 mg al giorno per un totale di 2 giorni, e seguito dal somministrare prednisone a una dose di circa 10 mg al giorno per un totale di 2 giorni. In alcuni casi, il trattamento con steroide è un trattamento con steroide topico. In alcuni casi, il trattamento con steroide è un trattamento con difluprednato. In alcuni casi, lo steroide è somministrato prima, durante e/o dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, lo steroide è somministrato prima, durante e/o dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale.

In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi dei casi precedenti, il trattamento con steroide è un trattamento con steroide topico e il trattamento con steroide topico è un trattamento con steroide giornaliero fino a circa 4 settimane, fino a circa 6 settimane o fino a circa 8 settimane dalla somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico comprende circa quattro somministrazioni di steroide topico circa alla settimana 1, circa tre somministrazioni di steroide topico circa alla settimana 2, circa due somministrazioni di steroide topico circa alla settimana 3, e circa una somministrazione di steroide topico circa alla settimana 4; la tempistica iniziando con e seguente una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico comprende circa quattro somministrazioni di steroide topico al giorno per circa 3 settimane dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV, seguite da circa 3 somministrazioni di steroide topico al giorno per circa 1

settimana, seguite da circa 2 somministrazioni di steroide topico al giorno per circa 1 settimana, e seguite da circa 1 somministrazione di steroide topico al giorno per circa 1 settimana. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico comprende circa quattro somministrazioni di steroide topico al giorno per circa quattro settimane, seguite da circa tre somministrazioni di steroide topico al giorno per circa una settimana, seguite da circa due somministrazioni di steroide topico al giorno per circa una settimana, e seguite da circa una somministrazione di steroide topico al giorno per circa una settimana; la tempistica iniziando circa una settimana antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico comprende circa quattro somministrazioni di steroide topico al giorno per circa un mese, seguite da circa tre somministrazioni di steroide topico al giorno per circa un mese, seguite da circa due somministrazioni di steroide topico al giorno per circa un mese, e seguite da circa una somministrazione di steroide topico al giorno per circa un mese; la tempistica iniziando circa alla somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico comprende circa quattro somministrazioni di steroide topico al giorno per circa un mese, seguite da circa tre somministrazioni di steroide topico al giorno per circa un mese, seguite da circa due somministrazioni di steroide topico al giorno per circa un mese, e seguite da circa una somministrazione di steroide topico al giorno per circa un mese; la tempistica iniziando circa una settimana antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, lo steroide topico comprende difluprednato allo 0,05% a una dose da circa 1 µg a circa 3 µg. In alcuni casi, lo steroide topico comprende difluprednato allo 0,05%

a una dose di circa 2,5 µg.

In alcuni casi, la malattia neovascolare oculare è la degenerazione maculare legata all'età umida (wAMD, Wet Age-related Macular Degeneration).

In alcuni casi, che possono essere combinati con qualsiasi dei casi precedenti, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato il mantenimento o una diminuzione dello spessore retinico in confronto allo spessore retinico precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il mantenimento o la diminuzione dello spessore retinico in confronto allo spessore retinico precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV è presente a circa 30 settimane, circa 34 settimane, circa 44 settimane, circa 6 mesi, circa 1 anno, circa 1,5 anni, circa 2 anni, circa 3 anni, circa 5 anni, circa 10 anni, o più dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione dello spessore retinico in confronto allo spessore retinico precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, la diminuzione dello spessore retinico è almeno circa il 10% in confronto allo spessore retinico precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, lo spessore retinico è lo spessore del sottocampo centrale (CST, Central Subfield Thickness) o lo spessore retinico centrale (CRT, Central Retinal Thickness).

In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi dei casi precedenti, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o

all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un mantenimento o una diminuzione del volume maculare in confronto al volume maculare precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il mantenimento o la diminuzione del volume maculare in confronto al volume maculare precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV è presente a circa 30 settimane, circa 34 settimane, circa 44 settimane, circa 6 mesi, circa 1 anno, circa 1,5 anni, circa 2 anni, circa 3 anni, circa 5 anni, circa 10 anni, o più dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione del volume maculare in confronto al volume maculare precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, la diminuzione del volume maculare è almeno circa il 10% in confronto al volume maculare precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV.

In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi delle precedenti forme di realizzazione, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un mantenimento o un miglioramento dell'acuità visiva in confronto all'acuità visiva precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il mantenimento o il miglioramento dell'acuità visiva in confronto all'acuità visiva precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV è presente a circa 30 settimane, circa 34 settimane, circa 44 settimane, circa 6 mesi, circa 1 anno, circa 1,5 anni, circa 2

anni, circa 3 anni, circa 5 anni, circa 10 anni, o più dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un miglioramento dell'acuità visiva in confronto all'acuità visiva antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'acuità visiva è la migliore acuità visiva corretta (BCVA, Best Corrected Visual Acuity).

In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi delle precedenti forme di realizzazione, una somministrazione di una singola dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo fornisce un beneficio terapeutico (ad es. trattamento di una malattia neovascolare oculare, riduzione di fluido retinico, mantenimento o una diminuzione di spessore retinico, mantenimento o una diminuzione di volume maculare, e/o mantenimento o un miglioramento di acuità visiva). In alcuni casi, una somministrazione di una singola dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo fornisce un beneficio terapeutico che è presente a circa 30 settimane o più, circa 34 settimane o più, circa 44 settimane o più, circa 6 mesi o più, circa 1 anno o più, circa 1,5 anni o più, o circa 2 anni, circa 3 anni, circa 5 anni, circa 10 anni, o più dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo.

In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi delle precedenti forme di realizzazione, una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale di una pluralità di

individui dà come risultato che almeno circa il 50% degli individui della pluralità non richieda un trattamento di salvataggio con anti-VEGF. In alcuni casi, almeno circa il 50% degli individui della pluralità non richiede un trattamento di salvataggio con anti-VEGF per almeno circa 20 settimane, almeno circa 36 settimane, almeno circa 52 settimane, almeno circa 56 settimane, o più dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV.

In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi delle precedenti forme di realizzazione, una somministrazione di una singola dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che almeno circa il 67% degli individui della pluralità non richieda un trattamento di salvataggio con anti-VEGF. In alcuni casi, almeno circa il 67% degli individui della pluralità non richiede un trattamento di salvataggio con anti-VEGF per almeno circa 20 settimane, almeno circa 36 settimane, almeno circa 52 settimane, almeno circa 60 settimane, almeno circa 64 settimane, o almeno circa 66 settimane dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV.

In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi delle precedenti forme di realizzazione, una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che almeno circa il 78% degli individui della pluralità non richieda un trattamento di salvataggio con anti-VEGF. In alcuni casi, almeno circa il 78% degli individui della pluralità non richiede un trattamento di salvataggio con anti-VEGF per almeno circa 20 settimane, almeno circa 36 settimane, o più dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV.

In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi delle precedenti forme di realizzazione, una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che il 100% degli individui della pluralità non richieda un trattamento di salvataggio con anti-VEGF. In alcuni casi, il 100% degli individui della pluralità non richiede un trattamento di salvataggio con anti-VEGF per almeno circa 64 settimane, almeno circa 68 settimane, almeno circa 72 settimane, almeno circa 76 settimane, almeno circa 80 settimane, almeno circa 84 settimane, o più dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV.

In alcuni casi che possono essere combinati con qualsiasi delle precedenti forme di realizzazione, una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato una riduzione del tasso di iniezione annualizzato di anti-VEGF di almeno circa l'80%, almeno circa l'85%, almeno circa l'87%, almeno circa il 90%, almeno circa il 95%, almeno circa il 99%, o il 100% in confronto al tasso di iniezione annualizzato di anti-VEGF precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV.

In alcuni casi, la malattia neovascolare oculare è edema maculare diabetico (EMD). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un miglioramento di 2 o 3 step nella Scala di gravità della retinopatia diabetica (DRSS, Diabetic Retinopathy Severity Scale). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un miglioramento di 2 step nella Scala di gravità

della retinopatia diabetica (DRSS). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un miglioramento di 3 step nella Scala di gravità della retinopatia diabetica (DRSS).

Breve descrizione dei disegni

Le **FIGG. 1A-1B** forniscono schemi del prodotto medicinale di indagine e dello studio di fase I descritti negli Esempi 1 e 2. La **FIG. 1A** è uno schema di AAV2.7m8-aflibercept. AAV2.7m8-aflibercept è un vettore virale adeno-associato ricombinante (rAAV) carente di replicazione contenente il capsido proteico AAV2.7m8 e un genoma di vettore contenente una cassetta di espressione di una versione ottimizzata per codone del cDNA di aflibercept sotto il controllo di un promotore chimerico ubiquitario (C11). Il genoma del vettore AAV2.7m8-aflibercept contiene anche due sequenze di ripetizioni terminali invertite (ITR) di AAV2 che fiancheggiano la cassetta di espressione del cDNA di aflibercept. La **FIG. 1B** è un diagramma che riassume il disegno di studio per lo studio di fase I descritto negli Esempi 1 e 2.

La **FIG. 1C** fornisce un diagramma del genoma di vettore AAV2.7m8-aflibercept (ID di SEQ n. 39). Il genoma di vettore comprende due ripetizioni terminali invertite (ITR) del sierotipo 2 di AAV (in corrispondenza delle posizioni 1-145 e 3772-3916 di ID di SEQ n. 39), una cassetta di espressione composta dal promotore di CMV (in corrispondenza delle posizioni 180-693 di ID di SEQ n. 39), una regione non tradotta (UTR) in 5' composta dalla sequenza leader tripartita di adenovirus e un introne sintetico (in corrispondenza delle posizioni 694-1314 di ID di SEQ n. 39), una sequenza di Kozak (in corrispondenza delle posizioni 1329-1340 di ID di SEQ n. 39), un cDNA di aflibercept ottimizzato per

codone (in corrispondenza delle posizioni 1338-2714 di ID di SEQ n. 39), una UTR in 3' composta da regione di attacco ad impalcatura umana (in corrispondenza delle posizioni 2717-3527 di ID di SEQ n. 39), e segnale di arresto di poliadenilazione/trascrizione dell'ormone della crescita umano (in corrispondenza delle posizioni 3546-3748 di ID di SEQ n. 39). AAV = virus adeno-associato; CMV = citomegalovirus; GH = ormone della crescita; ITR = ripetizione terminale invertita; polyA = poliadenilazione; SAR = regione attaccata a impalcatura; TPL = sequenza leader tripartita.

Le **FIGG. 2A-2L** mostrano immagini di tomografia a coerenza ottica (OCT, Optical Coherence Tomography) e mappe di spessore retinico derivate da immagini OCT prese da soggetti nella Coorte 1 dello studio descritto nell'Esempio 1. Le immagini OCT sono state prese nei tempi indicati prima e dopo una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept (Giorno 1). L'intervallo di trattamento IVT con anti-VEGF è indicato per tutti i soggetti. La **FIG. 2A** fornisce immagini OCT e mappe di spessore retinico derivate da immagini OCT prese dal Soggetto 1 in cinque visite ambulatoriali nei tempi indicati antecedentemente all'iniezione di aflibercept di Screening. Le immagini OCT sono state prese immediatamente antecedentemente al trattamento con aflibercept standard di cura. Il Soggetto 1 ha richiesto aflibercept IVT ogni 5-7 settimane e ha esibito fluido sottoretinico refrattario e un distacco dell'epitelio pigmentato (PED, Pigment Epithelial Detachment) nonostante un trattamento standard di cura con aflibercept. La **FIG. 2B** fornisce immagini OCT e mappe di spessore retinico derivate da immagini OCT prese dal Soggetto 1 all'iniezione di aflibercept di Screening (Giorno -7), all'iniezione di AAV2.7m8-aflibercept (Giorno 1) e alle visite di follow-up ai tempi indicati. Il Soggetto 1 non ha

richiesto alcuna iniezione di salvataggio dopo l'iniezione di AAV2.7m8-aflibercept. Il Soggetto 1 ha mostrato una risoluzione del fluido sottoretinico a partire dalla settimana 4, ed è rimasto privo di fluido sottoretinico e intraretinico (è rimasto asciutto). La **FIG. 2C** fornisce immagini OCT e mappe di spessore retinico derivate da immagini OCT prese dal Soggetto 2 in cinque visite ambulatoriali nei tempi indicati precedentemente all'iniezione di aflibercept di Screening. Le immagini OCT sono state prese immediatamente precedentemente al trattamento con aflibercept standard di cura. Il Soggetto 2 ha richiesto sei trattamenti IVT con aflibercept negli 8 mesi precedenti un trattamento con AAV2.7m8-aflibercept per mantenere l'anatomia retinica. La **FIG. 2D** fornisce immagini OCT e mappe di spessore retinico derivate da immagini OCT prese dal Soggetto 2 all'iniezione di aflibercept di Screening (Giorno -7), all'iniezione di AAV2.7m8-aflibercept (Giorno 1) e alle visite di follow-up ai tempi indicati. Il Soggetto 2 non ha richiesto alcuna iniezione di salvataggio dopo l'iniezione di AAV2.7m8-aflibercept. Il Soggetto 2 ha esibito anatomia retinica stabile con nessun fluido sottoretinico o intraretinico fino alla settimana 24. La **FIG. 2E** fornisce immagini OCT e mappe di spessore retinico derivate da immagini OCT prese dal Soggetto 3 in quattro visite ambulatoriali nei tempi indicati precedentemente all'iniezione di aflibercept di Screening. Le immagini OCT prese nella Settimana -27 non sono mostrate. Le immagini OCT sono state prese immediatamente precedentemente a trattamento con aflibercept standard di cura. Il Soggetto 3 ha esibito fluido sottoretinico, che è aumentato quando l'intervallo tra IVT di aflibercept è stato aumentato da 5 a 7 settimane. La **FIG. 2F** fornisce immagini OCT e mappe di spessore retinico derivate da immagini OCT prese dal Soggetto 3 all'iniezione di aflibercept di

Screening (Giorno -7), all'iniezione di AAV2.7m8-aflibercept (Giorno 1) e alle visite di follow-up ai tempi indicati. Il Soggetto 3 non ha richiesto alcuna iniezione di salvataggio dopo l'iniezione di AAV2.7m8-aflibercept. Il Soggetto 3 ha esibito risoluzione del fluido sottoretinico refrattario entro la settimana 8, e anatomia retinica stabile fino alla settimana 24. La **FIG. 2G** fornisce immagini OCT e mappe di spessore retinico derivate da immagini OCT prese dal Soggetto 4 in cinque visite ambulatoriali nei tempi indicati antecedentemente all'iniezione di aflibercept di Screening. Le immagini OCT sono state prese immediatamente antecedentemente a trattamento con ranibizumab 0,5 mg IVT standard di cura. Il Soggetto 4 ha esibito fluido sottoretinico che era refrattario a iniezioni IVT di ranibizumab. La **FIG. 2H** fornisce immagini OCT e mappe di spessore retinico derivate da immagini OCT prese dal Soggetto 4 all'iniezione di aflibercept di Screening (Giorno -14), all'iniezione di AAV2.7m8-aflibercept (Giorno 1) e alle visite di follow-up nei tempi indicati. Il Soggetto 4 non ha richiesto alcuna iniezione di salvataggio dopo l'iniezione di AAV2.7m8-aflibercept. Il Soggetto 4 ha esibito risoluzione del fluido sottoretinico refrattario entro la settimana 8, e anatomia retinica stabile fino alla settimana 24. La **FIG. 2I** fornisce immagini OCT e mappe di spessore retinico derivate da immagini OCT prese dal Soggetto 5 in cinque visite ambulatoriali nei tempi indicati antecedentemente all'iniezione di aflibercept di Screening. Le immagini OCT sono state prese immediatamente antecedentemente a trattamento con aflibercept standard di cura. La **FIG. 2J** fornisce immagini OCT e mappe di spessore retinico derivate da immagini OCT prese dal Soggetto 5 all'iniezione di aflibercept di Screening (Giorno -14), all'iniezione di AAV2.7m8-aflibercept (Giorno 1) e alle visite di follow-up ai tempi indicati. Il Soggetto 5 non ha

richiesto alcuna iniezione di salvataggio dopo l'iniezione di AAV2.7m8-aflibercept. Il fluido sottoretinico e il PED presenti al tempo del trattamento con AAV2.7m8-aflibercept si sono risolti nel tempo e l'anatomia retinica è rimasta stabile e priva di fluido sottoretinico o intraretinico fino alla settimana 24. La **FIG. 2K** fornisce immagini OCT e mappe di spessore retinico derivate da immagini OCT prese dal Soggetto 6 in cinque visite ambulatoriali nei tempi indicati precedentemente all'iniezione di aflibercept di Screening. Le immagini OCT sono state prese immediatamente precedentemente a trattamento con bevacizumab 1,5 mg IVT standard di cura o ranibizumab 0,5 mg IVT standard di cura, come indicato. L'aspetto della retina del Soggetto 6 era coerente con vasculopatia coroideale polipoidale (PCV, Polypoidal Choroidal Vasculopathy). La **FIG. 2L** fornisce immagini OCT e mappe di spessore retinico derivate da immagini OCT prese dal Soggetto 6 all'iniezione di aflibercept di Screening (Giorno -10), all'iniezione di AAV2.7m8-aflibercept (Giorno 1) e alle visite di follow-up ai tempi indicati. Il Soggetto 6 non ha richiesto alcuna iniezione di salvataggio dopo l'iniezione di AAV2.7m8-aflibercept. Il Soggetto 6 non ha esibito alcun aumento del fluido sottoretinico e ha conseguito un qualche miglioramento anatomico fino alla settimana 24. L'occhio controlaterale del Soggetto 6 ha ricevuto iniezioni di aflibercept standard di cura ogni 4 settimane nel corso della sperimentazione, e ha esibito morfologia retinica simile all'occhio trattato con AAV2.7m8-aflibercept.

La **FIG. 3** mostra il cambiamento dello spessore retinico centrale (CST) medio aritmetico per soggetti nella Coorte 1 dello studio descritto nell'Esempio 1 nei punti temporali indicati. Le barre di errore indicano l'intervallo di confidenza al 90%, calcolato usando la distribuzione T. Il basale (BL) indica la

misurazione presa antecedentemente all'iniezione di aflibercept di Screening da 7 a 15 giorni (ad es. 7-14 giorni) antecedentemente a trattamento con AAV2.7m8-aflibercept al giorno 1. A 24 settimane post-trattamento con AAV2.7m8-aflibercept, i soggetti in media hanno esibito un cambiamento di CRT di $-52,7 \mu\text{m}$ (IC del 90% $-86,5, -18,8$). BL = basale; D = giorno; W = settimana. La visita del giorno 1 si è verificata 7-14 giorni dopo la visita del basale.

La **FIG. 4** mostra le misurazioni della migliore acuità visiva corretta (BCVA) media aritmetica basate su accertamenti con lettere secondo lo studio Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) per soggetti nella Coorte 1 dello studio descritto nell'Esempio 1 nei punti temporali indicati. Le barre di errore indicano l'intervallo di confidenza al 90%, calcolato usando la distribuzione T. Il basale (BL) indica la misurazione presa antecedentemente all'iniezione di aflibercept di Screening da 7 a 15 giorni (ad es. 7-14 giorni) antecedentemente a trattamento con AAV2.7m8-aflibercept al giorno 1. A 24 settimane post-trattamento con AAV2.7m8-aflibercept, i soggetti in media hanno esibito un cambiamento di BCVA di -2 lettere (IC del 90% $-9,1, 5,1$). BL = basale; D = giorno; W = settimana. La visita del giorno 1 si è verificata 7-14 giorni dopo la visita del basale.

La **FIG. 5** fornisce la sequenza di acido nucleico di aflibercept (ID di SEQ n. 36).

La **FIG. 6** mostra i grafici delle conte di cellule di camera anteriore e cellule vitreali a seguito di trattamento con AAV2.7m8-aflibercept per i soggetti 1-6 dello studio descritto nell'Esempio 1. Il trattamento con steroide somministrato a ciascun paziente è indicato sotto ciascun grafico. Le categorie

di conta delle cellule dell'acqueo sono state basate sui criteri della Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) (Jabs, DA et al., J Ophthalmol. 2005;140:509-516). Le categorie di conta delle cellule vitreali sono state basate sulle linee guida del National Institutes of Health (NIH). Per cellule dell'acqueo, un valore di conta delle cellule di 0,5+ indica 1-5 cellule; un valore di conta delle cellule di 1+ indica 6-15 cellule; un valore di conta delle cellule di 2+ indica 16-25 cellule; un valore di conta delle cellule di 3+ indica 26-50 cellule; e un valore di conta delle cellule di 4+ indica >50 cellule. Per cellule vitreali, un valore di conta di cellule di 0,5+ indica 1-10 cellule; un valore di conta delle cellule di 1+ indica 11-20 cellule; un valore di conta delle cellule di 2+ indica 21-30 cellule; un valore di conta delle cellule di 3+ indica 31-100 cellule; e un valore di conta delle cellule di 4+ indica >100 cellule. Le cellule rare sono state catturate come 0,5+ per l'analisi mostrata in questa figura.

Le **FIGG. 7A-7B** mostrano immagini di tomografia a coerenza ottica (OCT) e mappe di spessore retinico derivate da immagini OCT prese dai soggetti 1-6 nella Coorte 1 dello studio descritto nell'Esempio 1 a un tempo di follow-up mediano di 34 settimane. In aggiunta, per ciascuno dei soggetti 1-6 vengono forniti anche il cambiamento di BCVA dal basale, il numero di iniezioni IVT di anti-VEGF negli 8 mesi antecedenti una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept e il numero di iniezioni IVT di anti-VEGF di salvataggio somministrate durante lo studio. La settimana effettiva durante la quale sono state ottenute le immagini OCT e le mappe di spessore retinico per ciascun soggetto è indicata (Soggetto 1 = Settimana 44; Soggetto 2 = Settimana 40; Soggetto 3 = Settimana 36; Soggetto 4 = Settimana 32; Soggetto 5 = Settimana 28; e Soggetto 6 = Settimana 28). Nessun soggetto ha richiesto iniezioni IVT di

anti-VEGF di salvataggio durante lo studio e nessun criterio di ritrattamento è stato soddisfatto in alcun momento durante il periodo di follow-up fino a 44 settimane. Nessun soggetto ha esibito segni di riattivazione della malattia all'imaging OCT.

La **FIG. 8** mostra grafici delle conte delle cellule dell'acqueo e vitreali a seguito di trattamento con AAV2.7m8-aflibercept per i soggetti 1-6 nella Coorte 1 dello studio descritto nell'Esempio 1 fino a un tempo di follow-up mediano di 44 settimane (40-52 settimane). Il trattamento con steroide somministrato a ciascun soggetto è indicato sotto ciascun grafico. Le categorie di grado delle cellule dell'acqueo sono state basate sui criteri della Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) (Jabs, DA et al. J Ophthalmol. 2005; 140:509-516). Le categorie di grado delle cellule vitreali sono state basate sulle linee guida del National Institutes of Health (NIH). Per cellule dell'acqueo, un grado di cellula di 0,5+ indica 1-5 cellule; un grado di cellula di 1+ indica 6-15 cellule; un grado di cellula di 2+ indica 16-25 cellule; un grado di cellula di 3+ indica 26-50 cellule; e un grado di cellula di 4+ indica >50 cellule. Per cellule vitreali, un grado di cellula di 0,5+ indica 1-10 cellule; un grado di cellula di 1+ indica 11-20 cellule; un grado di cellula di 2+ indica 21-30 cellule; un grado di cellula di 3+ indica 31-100 cellule; e un grado di cellula di 4+ indica >100 cellule. Le cellule rare sono state catturate come grado di cellula di 0,5+.

Le **FIGG. 9A-9B** mostrano immagini di tomografia a coerenza ottica (OCT) e mappe di spessore retinico derivate da immagini OCT prese dai soggetti 1-6 nella Coorte 1 dello studio descritto nell'Esempio 1 a un tempo di follow-up mediano di 44 settimane. Sono anche forniti i cambiamenti nelle lettere ETDRS per BCVA e nel CST dal Basale. Sono indicate le settimane

effettive durante le quali le immagini OCT e le mappe di spessore retinico sono state ottenute per ciascun soggetto. L'asterisco indica che il Soggetto 4 è stato sottoposto a riparazione di distacco retinico con iniezione di bolla di gas al fine di riparare un distacco di retina regmatogeno (RRD, Rhegmatogenous Retinal Detachment) spontaneo con separazione della macula inferiore pseudofachica (**FIG. 9B**). Il Soggetto 4 rimane sotto follow-up; le immagini OCT e i valori di BCVA per il Soggetto 4 corrispondono alle più recenti osservazioni antecedenti al distacco retinico.

La **FIG. 10** mostra le misurazioni della migliore acuità visiva corretta (BCVA) media aritmetica basate su accertamenti con lettere secondo lo studio Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) per i soggetti nella Coorte 2 dello studio descritto negli Esempi 2 e 3 ai punti temporali indicati. Le barre di errore indicano l'intervallo di confidenza al 90% della BCVA assoluta media aritmetica calcolata usando la distribuzione T. Il basale (BL) indica la misurazione presa precedentemente all'iniezione di aflibercept di Screening da 7 a 15 giorni (ad es. 7-14 giorni) precedentemente a trattamento con AAV2.7m8-aflibercept al giorno 1. A 24 settimane post-trattamento con AAV2.7m8-aflibercept, i soggetti hanno esibito un cambiamento medio aritmetico di BCVA di -4,8 lettere. BL = basale; D = giorno; W = settimana. La visita del giorno 1 si è verificata 7-15 giorni dopo la visita del basale.

La **FIG. 11** mostra lo spessore retinico centrale (CST) medio aritmetico per soggetti nella Coorte 2 dello studio descritto negli Esempi 2 e 3 ai punti temporali indicati. Le barre di errore indicano l'intervallo di confidenza al 90% della CST assoluta media aritmetica calcolata usando la distribuzione T. Il basale (BL) indica la misurazione presa precedentemente all'iniezione di

aflibercept di Screening da 7 a 15 giorni (ad es. 7-14 giorni) antecedentemente a trattamento con AAV2.7m8-aflibercept al giorno 1. A 24 settimane post-trattamento con AAV2.7m8-aflibercept, i soggetti hanno esibito un cambiamento medio aritmetico di CST di $-27,8 \mu\text{m}$. BL = basale; D = giorno; W = settimana. La visita del giorno 1 si è verificata 7-15 giorni dopo la visita del basale.

La **FIG. 12** mostra grafici delle conte delle cellule dell'acqueo e delle cellule vitreali a seguito di trattamento con AAV2.7m8-aflibercept per soggetti nella Coorte 2 dello studio descritto negli Esempi 2 e 3 fino a un tempo di follow-up di 24 settimane. Il trattamento con steroide somministrato a ciascun soggetto è indicato sotto ciascun grafico; la frequenza di somministrazione di colliri a base di steroidi topici (difluprednato) è indicata (ad es. 1x = una volta al giorno; 2x = due volte al giorno; 3x = 3 volte al giorno; 4x = 4 volte al giorno). Le categorie di grado delle cellule dell'acqueo sono state basate sui criteri della Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) (Jabs, DA et al. J Ophthalmol. 2005; 140:509-516). Le categorie di grado delle cellule vitreali sono state basate sulle linee guida del National Institutes of Health (NIH). Per cellule dell'acqueo, un grado di cellula di 0,5+ indica 1-5 cellule; un grado di cellula di 1+ indica 6-15 cellule; un grado di cellula di 2+ indica 16-25 cellule; un grado di cellula di 3+ indica 26-50 cellule; e un grado di cellula di 4+ indica >50 cellule. Per cellule vitreali, un grado di cellula di 0,5+ indica 1-10 cellule; un grado di cellula di 1+ indica 11-20 cellule; un grado di cellula di 2+ indica 21-30 cellule; un grado di cellula di 3+ indica 31-100 cellule; e un grado di cellula di 4+ indica >100 cellule. Le cellule rare sono state catturate come grado di cellula di 0,5+ per questa analisi.

Le **FIGG. 13A-13B** mostrano immagini di tomografia a coerenza ottica (OCT) e mappe di spessore retinico derivate da immagini OCT prese dai soggetti 1-6 nella Coorte 2 dello studio descritto negli Esempi 2 e 3 fino a un tempo di follow-up di 24 settimane. Sono altresì forniti il cambiamento di BCVA dal basale, il cambiamento di CST dal basale, e il numero di iniezioni di anti-VEGF di salvataggio somministrate durante il periodo di follow-up di 24 settimane. Nella **FIG. 13A**, gli asterischi indicano che il Soggetto 3 ha ricevuto 3 iniezioni di anti-VEGF di salvataggio, incluso alla settimana 24, tutte a causa della perdita di ≥ 10 lettere nella BCVA dal basale. Ciò è stato attribuito a fluido intraretinico o subretinico. Nella **FIG. 13B**, gli asterischi indicano che il Soggetto 5 ha ricevuto 3 iniezioni di anti-VEGF di salvataggio, l'ultima delle quali si è verificata la settimana 20, a causa di un aumento dello spessore del sottocampo centrale di >75 μm dal basale.

La **FIG. 14** è un grafico a corsie di nuoto che mostra il numero di iniezioni di anti-VEGF per soggetti nelle Coorti 1 e 2 dello studio descritto negli Esempi 1-3. L'asse x rappresenta il tempo in settimane rispetto al tempo in cui è stato somministrato AAV2.7m8-aflibercept. L'asse y mostra ciascun soggetto individuale nelle Coorti 1 e 2. Le sagome circolari rappresentano iniezioni IVT di anti-VEGF somministrate prima e dopo un trattamento con AAV2.7m8-aflibercept. L'asterisco indica che al Soggetto 6 della Coorte 2 è stata diagnosticata nAMD 6,4 mesi antecedentemente a una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept. La linea verticale bisecante il grafico indica il giorno 1, quando AAV2.7m8-aflibercept è stato somministrato. A destra della linea verticale bisecante vi sono ciascuna delle 61 susseguenti visite di studio.

Le **FIGG. 15A-15C** mostrano grafici di conte di cellule dell'acqueo e cellule vitreali come misurate mediante esame con lampada a fessura a seguito di trattamento con AAV2.7m8-aflibercept per soggetti nelle Coorti 1, 2 e 3 dello studio descritto negli Esempi 1-5. La **FIG. 15A** mostra grafici di conte di cellule dell'acqueo e cellule vitreali per soggetti nella Coorte 1 fino a un tempo di follow-up di 64 settimane (mediana = 60 settimane; range = 52-64 settimane). La **FIG. 15B** mostra grafici di conte di cellule dell'acqueo e cellule vitreali per soggetti nella Coorte 2 fino a un tempo di follow-up di 40 settimane (mediana = 36 settimane; range = 32-40 settimane). La **FIG. 15C** mostra grafici di conte di cellule dell'acqueo e cellule vitreali per soggetti nella Coorte 3 fino a un tempo di follow-up di 20 settimane. Nelle **FIGG. 15A-15C**, il trattamento con steroide somministrato a ciascun soggetto è indicato sotto ciascun grafico; le categorie di grado delle cellule dell'acqueo erano basate sui criteri della Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN): Jabs DA, et al. J Ophthalmol 2005;140:509-516; le categorie di grado delle cellule vitreali sono state basate sulle linee guida del National Institutes of Health (NIH); cellule dell'acqueo: 0,5+ = 1-5 cellule; 1+ = 6-15 cellule; 2+ = 16-25 cellule; 3+ = 26-50 cellule; 4+ = >50 cellule; cellule vitreali: 0,5+ = 1-10 cellule; 1+ = 11-20 cellule; 2+ = 21-30 cellule; 3+ = 31-100 cellule; 4+ = >100 cellule; le cellule rare sono state catturate come 0,5+ per questa analisi. QID = quattro volte al giorno; TID = tre volte al giorno; BID = due volte al giorno; QD = una volta al giorno; QOD = una volta ogni due giorni; "QD >>" indica che il soggetto continua a ricevere steroidi topici una volta al giorno; "BID >>" indica che il soggetto continua a ricevere steroidi topici due volte al giorno; e "QID >>" indica che il soggetto continua a ricevere steroidi topici quattro volte al giorno.

Le **FIGG. 16A-16B** forniscono la BCVA media aritmetica e CST medio aritmetico per soggetti nella Coorte 1 dello studio descritto negli Esempi 1-5 (n=6) dal basale fino alla Settimana 52. La **FIG. 16A** mostra la BCVA media aritmetica (lettere ETDRS) dal basale fino alla Settimana 52. L'asterisco indica che un soggetto aveva bassi punteggi di BCVA alle Settimane 44 e 48 a causa di distacco retinico. La **FIG. 16B** mostra il CST medio aritmetico (μm) dal basale fino alla Settimana 52. L'asterisco indica che un soggetto non aveva dati di CST alle Settimane 44 e 48 a causa di distacco retinico. Nelle **FIGG. 16A-16B**, le barre di errore indicano gli intervalli di confidenza al 90% dei valori assoluti medi aritmetici di BCVA e CST usando la distribuzione T; BL = basale; D = giorno; W = settimana.

Le **FIGG. 17A-17B** forniscono la BCVA media aritmetica e CST medio aritmetico per soggetti nella Coorte 2 dello studio descritto negli Esempi 1-5 (n=6) dal basale fino alla Settimana 36. La **FIG. 17A** mostra la BCVA media aritmetica (lettere ETDRS) dal basale fino alla Settimana 36. La **FIG. 17B** mostra il CST medio aritmetico (μm) dal basale fino alla Settimana 36. Nelle **FIGG. 17A-17B**, le barre di errore indicano gli intervalli di confidenza al 90% dei valori assoluti medi aritmetici di BCVA e CST usando la distribuzione T; BL = basale; D = giorno; W = settimana; un soggetto ha mancato la visita della Settimana 36.

Le **FIGG. 18A-18B** forniscono la BCVA media aritmetica e CST medio aritmetico per cinque soggetti nella Coorte 3 dello studio descritto negli Esempi 1-5 dal basale fino alla Settimana 20. La **FIG. 18A** mostra la BCVA media aritmetica (lettere ETDRS) dal basale fino alla Settimana 20. La **FIG. 18B** mostra il CST medio aritmetico (μm) dal basale fino alla Settimana 20. Nelle

FIGG. 18A-18B, le barre di errore indicano gli intervalli di confidenza del 90% dei valori assoluti medi aritmetici di BCVA e CST usando la distribuzione T; BL = basale; D = giorno; W = settimana; un soggetto ha mancato la visita della Settimana 36.

La **FIG. 19** è un grafico a corsie di nuoto che mostra il numero di iniezioni di anti-VEGF somministrate a soggetti nelle Coorti 1, 2 e 3 dello studio descritto negli Esempi 1-5. L'asse x rappresenta il tempo in settimane rispetto al tempo in cui è stato somministrato AAV2.7m8-aflibercept. L'asse y mostra ciascun soggetto individuale nelle Coorti 1-3. Le sagome circolari rappresentano iniezioni IVT di anti-VEGF somministrate prima e dopo un trattamento con AAV2.7m8-aflibercept. La linea verticale bisecante il grafico indica il Giorno 1, quando AAV2.7m8-aflibercept è stato somministrato. A destra della linea verticale bisecante vi sono ciascuna delle susseguenti visite di studio.

Le **FIGG. 20A-20B** mostrano immagini di tomografia a coerenza ottica (OCT) e mappe di spessore retinico derivate da immagini OCT prese dal Soggetto 4 nella Coorte 1 dello studio descritto negli Esempi 1-5 ai tempi indicati prima e dopo una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept. La **FIG. 20A** mostra immagini OCT e mappe di spessore retinico per il Soggetto 4 nella Coorte 1 in corrispondenza dei tempi indicati (settimane) antecedentemente a una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept, durante i quali al soggetto sono state somministrate iniezioni IVT di anti-VEGF (ranibizumab). La **FIG. 20B** mostra le immagini OCT e le mappe di spessore retinico per il Soggetto 4 nella Coorte 1 ai tempi indicati (settimane) prima e dopo una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept. Sono indicati i tempi di somministrazione dell'iniezione

IVT di anti-VEGF di screening ("IVT di anti-VEGF di Screening") e di AAV2.7m8-aflibercept ("AAV2.7m8-aflibercept"). La BCVA (lettere ETDRS) e il CST (μm) in ciascun tempo indicato prima e dopo una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept sono forniti. L'asterisco indica che il soggetto ha avuto un evento di distacco retinico non correlato ad AAV2.7m8-aflibercept.

Le **FIGG. 21A-21B** mostrano immagini di tomografia a coerenza ottica (OCT) e mappe di spessore retinico derivate da immagini OCT prese dal Soggetto 5 nella Coorte 3 dello studio descritto negli Esempi 1-5 ai tempi indicati prima e dopo una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept. La **FIG. 21A** mostra immagini OCT e mappe di spessore retinico per il Soggetto 5 nella Coorte 3 in corrispondenza dei tempi indicati (settimane) antecedentemente a una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept, durante i quali al soggetto sono state somministrate iniezioni IVT di anti-VEGF (aflibercept). La **FIG. 21B** mostra OCT e mappe di spessore retinico per il Soggetto 5 nella Coorte 3 ai tempi indicati (settimane) prima e dopo una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept. Sono indicati i tempi di somministrazione dell'iniezione IVT di anti-VEGF di screening ("IVT di anti-VEGF di Screening") e di AAV2.7m8-aflibercept ("AAV2.7m8-aflibercept"). La BCVA (lettere ETDRS) e il CST (μm) in ciascun tempo indicato prima e dopo una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept sono forniti.

Le **FIGG. 22A-22D** mostrano grafici di conte di cellule dell'acqueo e cellule vitreali come misurate mediante esame con lampada a fessura a seguito di trattamento con AAV2.7m8-aflibercept per soggetti nelle Coorti 1, 2, 3 e 4 dello studio descritto negli Esempi 1-5 e 7. La **FIG. 22A** mostra grafici di conte di cellule dell'acqueo e cellule vitreali per soggetti nella Coorte 1 fino a un

tempo di follow-up di 80 settimane. La **FIG. 22B** mostra grafici di conte di cellule dell'acqueo e cellule vitreali per soggetti nella Coorte 2 fino a un tempo di follow-up di 56 settimane. La **FIG. 22C** mostra grafici di conte di cellule dell'acqueo e cellule vitreali per soggetti nella Coorte 3 fino a un tempo di follow-up di 36 settimane. La **FIG. 22D** grafici di conte di cellule dell'acqueo e cellule vitreali per soggetti nella Coorte 4 fino a un tempo di follow-up di 8 settimane. Nelle **FIGG. 22A-22D**, il trattamento con steroidi somministrato a ciascun soggetto è indicato sotto ciascun grafico; le categorie di grado delle cellule dell'acqueo erano basate sui criteri della Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN): Jabs DA, et al. J Ophthalmol 2005;140:509-516; le categorie di grado delle cellule vitreali sono state basate sulle linee guida del National Institutes of Health (NIH); cellule dell'acqueo: 0,5+ = 1-5 cellule; 1+ = 6-15 cellule; 2+ = 16-25 cellule; 3+ = 26-50 cellule; 4+ = >50 cellule; cellule vitreali: 0,5+ = 1-10 cellule; 1+ = 11-20 cellule; 2+ = 21-30 cellule; 3+ = 31-100 cellule; 4+ = >100 cellule; le cellule rare sono state catturate come 0,5+ per questa analisi. QID = quattro volte al giorno; TID = tre volte al giorno; BID = due volte al giorno; QD = una volta al giorno; QOD = una volta ogni due giorni; "QD >>" indica che il soggetto continua a ricevere steroidi topici una volta al giorno; "BID >>" indica che il soggetto continua a ricevere steroidi topici due volte al giorno; "TID >>" indica che il soggetto continua a ricevere steroidi topici tre volte al giorno; e "QID >>" indica che il soggetto continua a ricevere steroidi topici quattro volte al giorno.

Le **FIGG. 23A-23B** forniscono la BCVA media aritmetica e CST medio aritmetico per soggetti nella Coorte 1 dello studio descritto negli Esempi 1-5 e 7 (n=6) dal basale fino alla Settimana 72. La **FIG. 23A** mostra la BCVA media

aritmetica (lettere ETDRS) dal basale fino alla Settimana 72. Un soggetto aveva bassi punteggi di BCVA alle Settimane 44 e 48 a causa di distacco retinico. *n = 5 dalla settimana 56 alla settimana 72. La **FIG. 23B** mostra il CST medio aritmetico (μm) dal basale fino alla Settimana 72. Un soggetto non aveva dati di CST alle Settimane 44 e 48 a causa di distacco retinico. *n = 5 dalla Settimana 56 alla Settimana 72. Nelle **FIGG. 23A-23B**, le barre di errore indicano gli intervalli di confidenza al 90% dei valori assoluti medi aritmetici di BCVA e CST usando la distribuzione T; BL = basale; D = giorno; W = settimana.

Le **FIGG. 24A-24B** forniscono la BCVA media aritmetica e CST medio aritmetico per soggetti nella Coorte 2 dello studio descritto negli Esempi 1-5 e 7 (n=6) dal basale fino alla Settimana 52. La **FIG. 24A** mostra la BCVA media aritmetica (lettere ETDRS) dal basale fino alla Settimana 52. *n = 5 per la Settimana 36 e la Settimana 40. La **FIG. 24B** mostra il CST medio aritmetico (μm) dal basale fino alla Settimana 52. *n = 5 per la Settimana 36 e la Settimana 40. Nelle **FIGG. 24A-24B**, le barre di errore indicano gli intervalli di confidenza al 90% dei valori assoluti medi aritmetici di BCVA e CST usando la distribuzione T; BL = basale; D = giorno; W = settimana.

Le **FIGG. 25A-25B** forniscono la BCVA media aritmetica e CST medio aritmetico per soggetti nella Coorte 3 dello studio descritto negli Esempi 1-5 e 7 (n=9) dal basale fino alla Settimana 20. La **FIG. 25A** mostra la BCVA media aritmetica (lettere ETDRS) dal basale fino alla Settimana 20. *n = 8 per le Settimane 4, 16 e 20. La **FIG. 25B** mostra il CST medio aritmetico (μm) dal basale fino alla Settimana 20. *n = 8 per le Settimane 4, 16 e 20. Nelle **FIGG. 25A-25B**, le barre di errore indicano gli intervalli di confidenza al 90% dei valori

assoluti medi aritmetici di BCVA e CST usando la distribuzione T; BL = basale; D = giorno; W = settimana.

La **FIG. 26** è un grafico a corsie di nuoto che mostra il numero di iniezioni di anti-VEGF somministrate a soggetti nelle Coorti 1, 2, 3 e 4 dello studio descritto negli Esempi 1-5 e 7. L'asse x rappresenta il tempo in settimane rispetto al tempo in cui è stato somministrato AAV2.7m8-aflibercept. L'asse y mostra ciascun soggetto individuale nelle Coorti 1-4. Le sagome circolari rappresentano iniezioni IVT di anti-VEGF somministrate prima e dopo un trattamento con AAV2.7m8-aflibercept. La linea verticale bisecante il grafico indica il Giorno 1, quando AAV2.7m8-aflibercept è stato somministrato. A destra della linea verticale bisecante vi sono ciascuna delle susseguenti visite di studio. Cinque soggetti hanno ricevuto la diagnosi <1 anno antecedentemente a iniezione di AAV2.7m8-aflibercept (1 soggetto in ciascuna delle Coorti 2 e 3, e 3 soggetti nella Coorte 4). Nella Coorte 4, i dati prima del Giorno 1 sono incompleti per il Soggetto 2 a causa di trasferimento, e per il Soggetto 5 perché il soggetto ha partecipato a una sperimentazione clinica con medicinale/i sconosciuto/i dopo la diagnosi.

Le **FIGG. 27A-27B** mostrano il tasso di iniezione di anti-VEGF annualizzato medio aritmetico per soggetti nelle Coorti 1-3 dello studio descritto negli Esempi 1-5 e 7. La **FIG. 27A** fornisce un confronto tra i tassi di iniezione di anti-VEGF annualizzati medi aritmetici per soggetti nella Coorte 1 (a cui è stata somministrata la "Dose Alta" di 6×10^{11} vg/occhio; n = 6) e per soggetti nelle Coorti 2 e 3 (a cui è stata somministrata la "Dose Bassa" di 2×10^{11} vg/occhio; n = 15). La **FIG. 27B** fornisce un confronto dei tassi di iniezione di anti-VEGF annualizzati medi aritmetici per soggetti in ciascuna delle Coorti 1 (n = 6), 2 (n =

6), e 3 (n = 9). Nelle **FIGG. 27A-27B**, tasso annualizzato (Antecedente) = (numero di iniezioni IVT di anti-VEGF nei 12 mesi antecedenti AAV2.7m8-aflibercept) / (giorni dalla prima iniezione IVT di anti-VEGF nei 12 mesi antecedenti l'iniezione di AAV2.7m8-aflibercept/365,25); e tasso annualizzato (Post) = (numero di iniezioni IVT di anti-VEGF da AAV2.7m8-aflibercept) / (giorni da AAV2.7m8-aflibercept all'ultimo follow-up di studio/365,25).

Le **FIGG. 28A-28B** mostrano immagini di tomografia a coerenza ottica (OCT) e mappe di spessore retinico derivate da immagini OCT prese dal Soggetto 5 nella Coorte 3 dello studio descritto negli Esempi 1-5 e 7 ai tempi indicati prima e dopo una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept. La **FIG. 28A** mostra immagini OCT e mappe di spessore retinico per il Soggetto 5 nella Coorte 3 ai tempi indicati (settimane) antecedentemente a una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept, durante i quali al soggetto sono state somministrate iniezioni IVT di anti-VEGF (aflibercept). La **FIG. 28B** mostra immagini OCT e mappe di spessore retinico per il Soggetto 5 nella Coorte 3 ai tempi indicati (settimane) prima e dopo una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept. Sono indicati i tempi di somministrazione dell'iniezione IVT di anti-VEGF di screening ("Aflibercept IVT") e di AAV2.7m8-aflibercept. La BCVA (lettere ETDRS) e il CST (μm) in ciascun tempo indicato prima e dopo una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept sono forniti.

La **FIG. 29** mostra un diagramma del disegno dello studio descritto nell'Esempio 6, che valuta la durabilità di una singola iniezione intravitreale (IVT) di AAV2.7m8-aflibercept in soggetti con edema maculare diabetico (EMD). DRSS = punteggio di gravità della retinopatia diabetica; OCT = tomografia a coerenza ottica; CST = spessore del sottocampo centrale. *Tutti i

soggetti ricevono un ciclo di 7 settimane di colliri a base di difluprednato, iniziando con QID e riducendo progressivamente fino a QD. **PE= accertamento dell'endpoint primario (Primary Endpoint). EOS= accertamento di fine dello studio (End Of Study).

Descrizione dettagliata

Nel seguito vengono descritti svariati aspetti della divulgazione con riferimento ad applicazioni di esempio per illustrazione. Si deve comprendere che vengono evidenziati numerosi dettagli, relazioni e metodi specifici per fornire una comprensione completa delle peculiarità descritte nel presente contesto. Tuttavia, un esperto dell'arte rilevante riconosce facilmente che le peculiarità descritte nel presente contesto possono essere messe in pratica senza uno o più dei dettagli specifici o con altri metodi. Le peculiarità descritte nel presente contesto non sono limitate dall'ordinamento illustrato di atti o eventi, in quanto alcuni atti possono avvenire in ordini differenti e/o contemporaneamente ad altri atti o eventi. Per di più, non è richiesto che tutti gli atti o eventi illustrati implementino una metodologia conformemente alle peculiarità descritte nel presente contesto.

Definizioni

Salvo altrimenti definito, tutti i termini tecnici usati nel presente contesto hanno lo stesso significato di quello comunemente compreso da un esperto dell'arte.

La terminologia usata nel presente contesto è allo scopo di descrivere solo esempi particolari e non è intesa essere limitativa. Come usato nel presente contesto, le forme singolari "un/uno/una", "un'" e "il/lo/la/l'" sono intese

includere anche le forme plurali, a meno che il contesto non indichi chiaramente diversamente. Per di più, nella misura in cui i termini "includente", "include", "avente", "ha", "con", o varianti di essi, vengono usati nella descrizione dettagliata e/o nelle rivendicazioni, tali termini sono intesi essere inclusivi in una maniera simile al termine "comprendente". Il termine "comprendente", come usato nel presente contesto, è sinonimo di "includente" o "contenente" ed è inclusivo o aperto.

Qualsiasi riferimento a "o" nel presente contesto è inteso inglobare "e/o", salvo altrimenti affermato. Come usato nel presente contesto, il termine "circa" un numero si riferisce a quel numero più o meno il 10% di quel numero. Il termine "circa" un intervallo si riferisce a tale intervallo meno il 10% del suo valore in assoluto più basso e più il 10% del suo valore in assoluto maggiore. Il riferimento a "circa" un valore o parametro nel presente contesto include (e descrive) forme di realizzazione che sono dirette a quel valore o parametro *di per sé*.

I termini "soggetto", "paziente" o "individuo" si riferiscono a primati, come esseri umani e primati non umani, ad es. cercopitechi verdi africani e macachi rhesus. In alcuni casi, il soggetto è un essere umano.

I termini "trattare", "trattando", "trattamento", "apportare migioria a" o "apportando migioria a" e altri equivalenti grammaticali come usati nel presente contesto si riferiscono ad alleviare, attenuare o apportare migioria a una malattia o disturbo neovascolare oculare, o a sintomi della malattia o disturbo neovascolare oculare, prevenire sintomi aggiuntivi della malattia o disturbo neovascolare oculare, apportare migioria a o prevenire le cause metaboliche sottostanti dei sintomi, inibire la malattia o disturbo neovascolare oculare, ad

es., arrestare lo sviluppo della malattia o disturbo neovascolare oculare, alleviare la malattia o disturbo neovascolare oculare, provocare una regressione della malattia o disturbo neovascolare oculare, o arrestare i sintomi della malattia o disturbo neovascolare oculare, e sono intesi includere una profilassi. I termini includono inoltre il conseguimento di un beneficio terapeutico e/o un beneficio profilattico. L'espressione "beneficio terapeutico" si riferisce all'eradicazione o apporto di miglìoria alla malattia o disturbo neovascolare oculare che viene trattato. Un beneficio terapeutico si consegue anche con l'eradicazione o l'apporto di miglìoria a uno o piú dei sintomi fisiologici associati alla malattia o disturbo neovascolare oculare, in modo tale che si osservi un miglìoramento nel soggetto, nonostante, in alcuni casi, il soggetto sia ancora affetto dalla malattia o disturbo neovascolare oculare. Per un beneficio profilattico, le composizioni farmaceutiche vengono somministrate a un soggetto a rischio di sviluppare la malattia o disturbo neovascolare oculare, o a un soggetto che riferisce uno o piú dei sintomi fisiologici della malattia o disturbo neovascolare oculare, persino se non è stata realizzata una diagnosi della malattia o del disturbo.

I termini "somministrare", "somministrazione" e simili, come usati nel presente contesto, possono riferirsi ai metodi che sono usati per abilitare l'erogazione di agenti terapeutici o composizioni farmaceutiche al sito desiderato di azione biologica. Questi metodi includono l'iniezione intravitreale o sottoretinica in un occhio.

Le locuzioni "quantità efficace", "quantità terapeuticamente efficace" o "quantità farmaceuticamente efficace", come usate nel presente contesto, possono riferirsi a una quantità sufficiente di almeno una composizione

farmaceutica o composto che è somministrato che attenua in certa misura uno o più dei sintomi della malattia o disturbo oculare che è trattato. Una "quantità efficace", "quantità terapeuticamente efficace" o "quantità farmaceuticamente efficace" di una composizione farmaceutica può essere somministrata a un soggetto che ne ha bisogno come dose unitaria (come descritto più in dettaglio altrove nel presente contesto).

La locuzione "farmaceuticamente accettabile", come usata nel presente contesto, può riferirsi a un materiale, come un veicolante o diluente, che non annulla l'attività biologica o le proprietà di un composto divulgato nel presente contesto, ed è relativamente non tossico (cioè, quando il materiale viene somministrato a un individuo, non provoca effetti biologici indesiderati né interagisce in maniera dannosa con nessuno dei componenti della composizione in cui è contenuto).

La locuzione "composizione farmaceutica", o semplicemente il termine "composizione", come usata/o nel presente contesto, può riferirsi a un composto biologicamente attivo, facoltativamente miscelato con almeno un componente chimico farmaceuticamente accettabile, come, benché non limitato a, veicolanti, stabilizzanti, diluenti, agenti disperdenti, agenti di sospensione, agenti addensanti, eccipienti e simili.

Un "vettore AAV" o "vettore rAAV", come usato nel presente contesto, si riferisce a un vettore di virus adeno-associato (AAV) o un vettore AAV ricombinante (rAAV) comprendente una sequenza di polinucleotidi non di origine di AAV (ad es. un polinucleotide eterologo ad AAV come una sequenza di acido nucleico che codifica un transgene terapeutico, ad es. aflibercept) per trasduzione in una cellula bersaglio o un tessuto bersaglio. In generale, il

polinucleotide eterologo è affiancato da almeno una, e generalmente da due, sequenze ripetute terminali invertite (ITR) di AAV. La locuzione vettore rAAV ingloba sia le particelle di vettore rAAV sia i plasmidi di vettore rAAV. Un vettore rAAV può essere a singolo filamento (ssAAV) o autocomplementare (scAAV).

Un "virus AAV" o "particella virale di AAV" o "particella di vettore rAAV" o "particella di rAAV" si riferisce a una particella virale comprendente almeno una proteina di capsido di AAV e un vettore rAAV polinucleotidico. In alcuni casi, l' almeno una proteina di capsido di AAV è da un AAV di tipo selvatico o è una variante della proteina di capsido di AAV (ad es. una proteina di capsido di AAV con un' inserzione, ad es., un' inserzione della sequenza di amminoacidi 7m8 come esposto nel seguito). Se la particella comprende un polinucleotide eterologo (ad es. un polinucleotide diverso da un genoma di AAV di tipo selvatico come un transgene da erogare a una cellula bersaglio o tessuto bersaglio), a essa ci si riferisce come "particella di rAAV", "particella di vettore rAAV" o "vettore rAAV". Dunque, la produzione di particelle di rAAV include necessariamente una produzione di un vettore rAAV, come tale vettore contenuto all'interno di una particella di rAAV.

Il termine "impaccamento", come usato nel presente contesto, può riferirsi a una serie di eventi intracellulari che possono dare come risultato l'assemblaggio e l'incapsidamento di una particella di rAAV.

I geni "rep" e "cap" di AAV si riferiscono alle sequenze di polinucleotidi che codificano le proteine di replicazione e incapsidamento del virus adeno-associato. Nel presente contesto, a rep e cap di AAV ci si riferisce come "geni di impaccamento" di AAV.

Il termine "polipeptide" può inglobare proteine sia presenti in natura sia non presenti in natura (ad es. una proteina di fusione), peptidi, frammenti, mutanti, derivati e analoghi di essi. Un polipeptide può essere monomero, dimerico, trimerico o polimerico. Inoltre, un polipeptide può comprendere un numero di domini differenti, ciascuno dei quali ha una o più attività distinte. Per evitare dubbi, un "polipeptide" può avere qualsiasi lunghezza maggiore di due amminoacidi.

Come usato nel presente contesto, "variante polipeptidica" o semplicemente "variante" si riferisce a un polipeptide la cui sequenza contiene una modifica di amminoacido. In alcuni casi, la modifica è un'inserzione, duplicazione, delezione, riarrangiamento o sostituzione di uno o più amminoacidi in confronto alla sequenza di amminoacidi di una proteina o polipeptide di riferimento, come una proteina nativa o di tipo selvatico. Una variante può avere una o più sostituzioni di punti di amminoacidi, in cui un singolo amminoacido in corrispondenza di una posizione è stato cambiato in un altro amminoacido, una o più inserzioni e/o delezioni, in cui uno o più amminoacidi sono inseriti o eliminati, rispettivamente, nella sequenza della proteina di riferimento, e/o troncamenti della sequenza di amminoacidi in uno o entrambi i terminali amminico o carbossilico. Una variante può avere la stessa o una differente attività biologica in confronto alla proteina di riferimento o alla proteina non modificata.

In alcuni casi, una variante può avere, per esempio, almeno circa l'80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% di omologia di sequenza complessiva con la sua proteina di riferimento di controparte. In alcuni casi, una variante può avere almeno il 90% circa di omologia di

sequenza complessiva con la proteina di tipo selvatico. In alcuni casi, una variante esibisce almeno circa il 95%, almeno circa il 98%, almeno circa il 99%, almeno circa il 99,5% o almeno circa il 99,9% di identità di sequenza complessiva.

Come usato nel presente contesto, "ricombinante" può riferirsi a una biomolecola, ad es. un gene o una proteina, che (1) è stata rimossa dal suo ambiente presente in natura, (2) non è associata a tutto o una porzione di un polinucleotide in cui il gene si trova in natura, (3) è operativamente collegata a un polinucleotide a cui non è collegata in natura, o (4) non si presenta in natura. Il termine "ricombinante" può essere usato in riferimento a isolati di DNA clonati, analoghi polinucleotidici sintetizzati chimicamente o analoghi polinucleotidici che sono sintetizzati biologicamente da sistemi eterologhi, nonché proteine e/o mRNA codificati da tali acidi nucleici. Dunque, per esempio, una proteina sintetizzata da un microrganismo è ricombinante, per esempio, se è sintetizzata da un mRNA sintetizzato da un gene ricombinante presente nella cellula.

La locuzione "agente anti-VEGF" include qualsiasi agente terapeutico, inclusi proteine, polipeptidi, peptidi, proteina di fusione, proteine multimeriche, prodotti genici, anticorpo, anticorpo monoclonale umano, frammento di anticorpo, aptamero, piccola molecola, inibitore di chinasi, recettore o frammento di recettore, o molecola di acido nucleico, che possa ridurre, interferire con, interrompere, bloccare e/o inibire l'attività o la funzione di un VEGF endogeno e/o di un recettore di VEGF endogeno (VEGFR), o l'interazione o la via VEGF-VEGFR *in vivo*. Un agente anti-VEGF può essere uno qualsiasi degli agenti terapeutici noti che possono ridurre la crescita o la formazione di nuovi vasi sanguigni e/o l'edema, o il rigonfiamento, quando

erogato in una cellula, un tessuto o un soggetto *in vivo*, ad es. ranibizumab, brolucizumab o bevacizumab. In alcuni casi, un agente anti-VEGF può essere presente in natura, non presente in natura, o sintetico. In alcuni casi, un agente anti-VEGF può essere derivato da una molecola presente in natura che è stata susseguentemente modificata o mutata per conferire un'attività anti-VEGF. In alcuni casi, un agente anti-VEGF è una proteina di fusione o chimerica. In tali proteine, domini funzionali o polipeptidi sono artificialmente fusi a un raggruppamento o a un polipeptide per realizzare una proteina di fusione o chimerica che può sequestrare il VEGF *in vivo* o funzionare come un decoy del VEGFR. In alcuni casi, un agente anti-VEGF è una proteina di fusione o chimerica che blocca l'interazione di VEGFR endogeno con i suoi ligandi.

Come usato nel presente contesto, "VEGF" può riferirsi a qualsiasi isoforma di VEGF, salvo altrimenti richiesto, inclusi, ma non limitati a, VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F, o qualsiasi combinazione, o qualsiasi frammento o variante funzionale di essi. Salvo altrimenti richiesto, "VEGF" può riferirsi a qualsiasi membro della famiglia VEGF, inclusi i membri: VEGF-A, fattore di crescita placentare (PGF, Placenta Growth Factor), VEGF-B, VEGF-C e VEGF-D, o qualsiasi combinazione, frammento o variante funzionale di essi. Come usato nel presente contesto, "recettore di VEGF" o "VEGFR" o "VEGF-R" può essere usato per riferirsi a uno qualsiasi dei recettori di VEGF, inclusi, ma non limitati a, VEGFR-1 (o Flt-1), VEGFR-2 (o Flk-1/KDR), e VEGFR-3 (o Flt-4). Il VEGFR può essere una forma legata a membrana o solubile, oppure un frammento funzionale o un troncamento di un recettore. Esempi di agenti anti-VEGF includono, ma non sono limitati a, ranibizumab, bevacizumab, brolucizumab o qualsiasi combinazione, variante o frammento

funzionale di essi.

"Operativamente collegato" o "operabilmente collegato" o "accoppiato" può riferirsi a una giustapposizione di elementi genetici, in cui gli elementi sono in una relazione che permette loro di operare in maniera prevista. Ad esempio, un promotore può essere collegato operativamente a una regione codificante se il promotore aiuta ad avviare la trascrizione della sequenza codificante. Possono esservi residui intermedi tra il promotore e la regione codificante, purché venga mantenuta questa relazione funzionale.

La locuzione "vettore di espressione" o "costrutto di espressione" o il termine "cassetta" o "plasmide" o semplicemente "vettore" può includere qualsiasi tipo di costrutto genetico, inclusi i vettori AAV o rAAV, contenente un acido nucleico o polinucleotide codificante per un prodotto genico in cui parte o tutta la sequenza codificante acidi nucleici è in grado di essere trascritta ed è adattata per la terapia genica. La trascrizione può essere tradotta in una proteina. In alcuni casi, il trascritto è parzialmente tradotto o non tradotto. In certi casi, un'espressione include sia la trascrizione di un gene sia la traduzione di mRNA in un prodotto genico. In altri casi, un'espressione include solo la trascrizione dei geni d'interesse codificanti acidi nucleici. Un vettore di espressione può anche comprendere elementi di controllo collegati operativamente alla regione codificante per facilitare l'espressione della proteina nelle cellule bersaglio. Alla combinazione di elementi di controllo e un gene o geni, ai quali sono collegati operabilmente per l'espressione, ci si può talvolta riferire come "cassetta di espressione", un gran numero delle quali è noto e disponibile nell'arte o possono essere facilmente costruite a partire da componenti che sono disponibili nell'arte.

Il termine "eterologo" può riferirsi a un'entità che è genotipicamente distinta da quella del resto dell'entità con cui viene confrontata. Per esempio, un polinucleotide introdotto mediante tecniche di ingegneria genetica in un plasmide o vettore derivato da una specie differente può essere un polinucleotide eterologo. Un promotore rimosso dalla sua sequenza codificante nativa e operativamente collegato a una sequenza codificante, con la quale non si trova naturalmente collegato, può essere un promotore eterologo.

Come usato nel presente contesto, "7m8" si riferisce alla sequenza di amminoacidi LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1).

"Variante 7m8" si riferisce a un rAAV, che può essere di qualsiasi sierotipo, con la sequenza di amminoacidi LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1) inserita nell'ansa GH esposta a solvente della proteina di capsida.

Quando 7m8 è inserito in un rAAV2 (a cui ci si riferisce anche come AAV2.7m8), la sequenza di amminoacidi LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1) è inserita nell'ansa GH all'interno degli amminoacidi 570-611 della proteina di capsida di AAV2, ad es. tra le posizioni 587 e 588 della proteina di capsida VP1 di AAV2. In alcuni casi, quando 7m8 è inserito in un rAAV2 (a cui ci si riferisce anche come AAV2.7m8), la sequenza di amminoacidi LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1) è inserita nell'ansa GH della proteina di capsida di AAV2, ad es. tra le posizioni 587 e 588 di VP1 di AAV2 comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 13. Quando 7m8 è inserito in un rAAV1 (a cui ci si riferisce anche come AAV1.7m8), la sequenza di amminoacidi LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1) è inserita nell'ansa GH all'interno degli amminoacidi 571-612 della proteina di capsida di AAV1, ad es. tra gli amminoacidi 590 e 591 della proteina di capsida di AAV1. Quando 7m8 è inserito in un rAAV5 (a cui ci si riferisce anche come

AAV5.7m8), la sequenza di amminoacidi LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1) è inserita nell'ansa GH all'interno degli amminoacidi 560-601 della proteina di capsidi di AAV5, ad es. tra gli amminoacidi 575 e 576 della proteina di capsidi di AAV5. Quando 7m8 è inserito in un rAAV6 (a cui ci si riferisce anche come AAV6.7m8), la sequenza di amminoacidi LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1) è inserita nell'ansa GH all'interno degli amminoacidi da 571 a 612 della proteina di capsidi di AAV6, ad es. tra gli amminoacidi 590 e 591 della proteina di capsidi di AAV6. Quando 7m8 è inserito in un rAAV7 (a cui ci si riferisce anche come AAV7.7m8), la sequenza di amminoacidi LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1) è inserita nell'ansa GH all'interno degli amminoacidi da 572 a 613 della proteina di capsidi di AAV7, ad es. tra gli amminoacidi 589 e 590 della proteina di capsidi di AAV7. Quando 7m8 è inserito in un rAAV8 (a cui ci si riferisce anche come AAV8.7m8), la sequenza di amminoacidi LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1) è inserita nell'ansa GH all'interno degli amminoacidi da 573 a 614 della proteina di capsidi di AAV8, ad es. tra gli amminoacidi 590 e 591 della proteina di capsidi di AAV8. Quando 7m8 è inserito in un rAAV9 (a cui ci si riferisce anche come AAV9.7m8), la sequenza di amminoacidi LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1) è inserita nell'ansa GH della proteina di capsidi di AAV9, ad es. tra gli amminoacidi 588 e 589 della proteina di capsidi di AAV9. Quando 7m8 è inserito in un rAAV10 (a cui ci si riferisce anche come AAV10.7m8), la sequenza di amminoacidi LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1) è inserita nell'ansa GH all'interno degli amminoacidi da 573 a 614 della proteina di capsidi di AAV10, ad es. tra gli amminoacidi 589 e 590 della proteina di capsidi di AAV10.

Panoramica

Le terapie attuali (ad es. proteina ricombinante aflibercept, proteina ricombinante ranibizumab) per malattie neovascolari oculari come wAMD richiedono una somministrazione IVT per tutta la vita approssimativamente ogni 4-8 settimane. Ciò può aumentare il rischio di infiammazione, infezione e altri effetti avversi in alcuni pazienti. Inoltre, le terapie attuali creano sfide di compliance dovute a ripetuti e/o frequenti spostamenti presso gli studi medici per la somministrazione della terapia, specialmente nei pazienti anziani, che sono i più colpiti da wAMD. Una riduzione della frequenza di somministrazione è associata a perdita della vista e deterioramento della malattia o condizione dell'occhio. L'abilità dei vettori AAV di trasdurre in modo efficiente le cellule retiniche bersaglio a seguito di iniezione IVT è stata sfruttata per trasferire con successo geni terapeutici nei fotorecettori, nell'epitelio pigmentato retinico e nella retina interna per trattare una varietà di malattie retiniche. Dunque, una somministrazione di particelle di rAAV che codificano un agente anti-VEGF (ad es. aflibercept) può fornire un rilascio prolungato e/o sostenuto dell'agente anti-VEGF *in vivo*.

Sorprendentemente, una somministrazione di una singola dose unitaria bassa di 6×10^{11} genomi di vettore (vg) per occhio di particelle di rAAV che codificano aflibercept agli occhi di individui con una malattia neovascolare oculare ha portato a una stabilizzazione della malattia e a una robusta risposta anatomica in tutti gli individui trattati (*si veda* l'Esempio 1). In aggiunta, l'acuità visiva è stata stabilizzata in tutti gli individui trattati e nessuno degli individui ha richiesto un trattamento con anti-VEGF di salvataggio (ad es. iniezioni IVT di aflibercept) dopo una somministrazione della singola dose unitaria bassa di 6×10^{11} vg/occhio di particelle di rAAV che codificano aflibercept. Oltretutto, una

somministrazione della singola dose unitaria di particelle di rAAV che codificano aflibercept agli occhi di individui con una malattia neovascolare oculare ha provocato inaspettatamente una riduzione (ad es. risoluzione) di sintomi, inclusi fluido intraretinico e sottoretinico che erano refrattari ad antecedenti trattamenti con anti-VEGF (ad es., iniezioni IVT croniche di aflibercept, ranibizumab, o bevacizumab).

Di conseguenza, la presente divulgazione descrive metodi di trattamento di una malattia neovascolare oculare in un individuo somministrando una singola dose unitaria di 6×10^{11} vg/occhio o meno di particelle di rAAV che codificano un agente anti-VEGF (ad es. aflibercept). In aggiunta, la presente divulgazione descrive metodi per ridurre fluido retinico nell'occhio di un individuo con una malattia neovascolare oculare somministrando una singola dose unitaria di particelle di rAAV che codificano un agente anti-VEGF (ad es. aflibercept). I metodi divulgati nel presente contesto riducono o eliminano la necessità di iniezioni IVT ripetute fornendo al contempo un'efficacia a lungo termine, affrontando in tal modo il problema della non compliance e della non aderenza. In aggiunta, i metodi descritti nel presente contesto riducono gli effetti avversi associati a molteplici iniezioni IVT.

Metodi di trattamento

Descritto nel presente contesto è un metodo per trattare una malattia neovascolare oculare in un individuo, il metodo comprendendo somministrare una dose unitaria di particelle di virus adeno-associato ricombinante (rAAV) a un occhio dell'individuo.

Descritto nel presente contesto è anche un metodo per ridurre fluido retinico nell'occhio di un individuo con una malattia neovascolare oculare, il metodo comprendendo somministrare una dose unitaria di particelle di rAAV a un occhio dell'individuo.

Descritto nel presente contesto è anche un metodo per trattare una malattia neovascolare oculare in un individuo, il metodo comprendendo somministrare un agente anti-VEGF (ad es. aflibercept) a un occhio dell'individuo, e somministrare una dose unitaria di particelle di virus adeno-associato ricombinante (rAAV) all'occhio dell'individuo dopo una somministrazione dell'agente anti-VEGF.

In alcuni casi, la malattia neovascolare oculare è degenerazione maculare legata all'età umida (wAMD), neovascolarizzazione retinica, neovascolarizzazione coroideale, retinopatia diabetica, retinopatia diabetica proliferativa, occlusione della vena retinica, occlusione della vena retinica centrale, occlusione della vena retinica di branca, edema maculare diabetico, ischemia retinica diabetica, retinopatia ischemica, edema retinico diabetico, o qualsiasi combinazione di essi.

In alcuni casi, la locuzione malattia neovascolare oculare ingloba anche malattie pre-neovascolari guidate da VEGF che, se lasciate non trattate, progrediscono in una forma neovascolare. In alcuni casi, la malattia neovascolare oculare è la malattia pre-neovascolare, retinopatia diabetica non proliferativa.

In alcuni casi, l'individuo è un essere umano. In alcuni casi, l'individuo ha ricevuto almeno un trattamento antecedente (ad es. almeno uno, almeno

due, almeno tre, almeno quattro, almeno 5 o più trattamenti) per la malattia neovascolare oculare con un agente anti-VEGF (ad es. bevacizumab, brolocizumab, ranibizumab, faricimab, abicipar pegol, conbercept, OPT-302, KSI-301, sunitinib maleato iniettabile (GB-102), PAN-90806 (PanOptica), e/o aflibercept) circa nelle ultime 8 settimane, circa le ultime 9 settimane, circa le ultime 10 settimane, circa le ultime 11 settimane, circa le ultime 12 settimane, circa le ultime 13 settimane, circa le ultime 14 settimane, circa le ultime 15 settimane, o circa le ultime 16 settimane antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo ha dimostrato una risposta significativa a un trattamento antecedente con agente anti-VEGF (ad es. bevacizumab, brolocizumab, ranibizumab, faricimab, abicipar pegol, conbercept, OPT-302, KSI-301, sunitinib maleato iniettabile (GB-102), PAN-90806 (PanOptica), e/o aflibercept). In alcuni casi, l'agente anti-VEGF è aflibercept, una variante funzionale di esso, o un frammento funzionale di esso. In alcuni casi, l'agente anti-VEGF comprende un polipeptide comprendente una sequenza di amminoacidi con almeno circa il 95% di identità rispetto alla sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 35. In alcuni casi, il fluido retinico nell'occhio di un individuo è fluido intraretinico (IRF) e/o fluido subretinico (SRF). In alcuni casi, la quantità o presenza di fluido retinico nell'occhio dell'individuo è refrattaria a un antecedente trattamento con un agente anti-VEGF (ad es. bevacizumab, brolocizumab, ranibizumab, faricimab, abicipar pegol, conbercept, OPT-302, KSI-301, sunitinib maleato iniettabile (GB-102), PAN-90806 (PanOptica), e/o aflibercept). In alcuni casi, l'agente anti-VEGF è aflibercept, una variante funzionale di esso, o un frammento funzionale di esso. In alcuni casi, l'agente anti-VEGF comprende un

polipeptide comprendente una sequenza di amminoacidi con almeno circa il 95% di identità rispetto alla sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 35.

In alcuni casi, la malattia neovascolare oculare è edema maculare diabetico (EMD). In alcuni casi, l'individuo è un essere umano. In alcuni casi, l'individuo ha diabete mellito di tipo 1 o di tipo 2. In alcuni casi, l'individuo ha una compromissione della vista che è dovuta a edema maculare diabetico coinvolgente il centro. In alcuni casi, l'individuo ha un'acuità visiva (BCVA) tra circa 78 e 50 lettere ETDRS (ad es. qualsiasi tra 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77 o 78 lettere ETDRS) nell'occhio in cui sono state somministrate le particelle di rAAV antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo ha un'acuità visiva (equivalente di Snellen) tra circa 20/32 e circa 20/100 nell'occhio in cui sono state somministrate le particelle di rAAV antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo ha uno spessore del sottocampo centrale (CST) di ≥ 325 μm usando Heidelberg Spectralis® con IRF che coinvolge il centro (centro 1 mm) nell'occhio in cui sono state somministrate le particelle di rAAV antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo ha una diminuzione della vista nell'occhio in cui sono state somministrate le particelle di rAAV antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV che è dovuta principalmente a edema maculare diabetico. In alcuni casi, all'individuo è stato diagnosticato un edema maculare diabetico nell'occhio in cui sono state somministrate le particelle di rAAV circa 6 mesi o meno antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di

rAAV, ad es., qualsiasi tra circa 6 mesi, circa 5 mesi, circa 4 mesi, circa 3 mesi, circa 2 mesi, circa 1 mese o meno, antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo ha ricevuto 0, 1 o 2 trattamenti antecedenti per EMD nell'occhio in cui sono state somministrate le particelle di rAAV, ad es. 0, 1 o 2 iniezioni intravitreali con un agente anti-VEGF, ad es. aflibercept, antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo ha ricevuto i trattamenti antecedenti con un agente anti-VEGF nell'occhio in cui sono state somministrate le particelle di rAAV almeno circa 60 giorni (*cioè*, circa 2 mesi) antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo ha esibito una risposta significativa nello spessore del sottocampo centrale agli antecedenti trattamenti con un agente anti-VEGF nell'occhio in cui sono state somministrate le particelle di rAAV antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV, per esempio, una riduzione di almeno il 10% dello spessore del sottocampo centrale. In alcuni casi, l'individuo non ha esperito una reazione avversa ai trattamenti antecedenti con un agente anti-VEGF antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non ha anticorpi neutralizzanti per AAV2.7m8 antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non ha un titolo di anticorpi neutralizzanti anti-AAV2.7m8 maggiore di 1:125 antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV, ad es. entro circa 6 mesi antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non ha una storia di allergia ad aflibercept, corticosteroidi o tintura di

fluoresceina o fluoresceina sodica (ad es. usata in angiografia) antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo ha una storia di lieve allergia ad aflibercept, corticosteroide o tintura di fluoresceina o fluoresceina sodica (ad es. usata in angiografia) antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV, in cui l'allergia è suscettibile di trattamento. In alcuni casi, l'individuo non ha diabete non controllato, ad es., HbA1C maggiore del 10%, antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non ha una storia di chetoacidosi diabetica entro circa 3 mesi antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non ha avviato un trattamento intensivo con insulina, ad es., con una pompa per insulina o molteplici iniezioni giornaliere di insulina, antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non sta pianificando di avviare un trattamento intensivo con insulina, ad es. con una pompa per insulina o molteplici iniezioni giornaliere di insulina, entro circa 3 mesi dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non ha una storia di malattia autoimmune sistemica che richieda trattamento con steroidi sistemici o trattamenti immunosoppressivi, ad es. metotrexato o adalimumab, antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, all'individuo non viene somministrato un farmaco sistemico noto per provocare edema maculare, come fingolimod, tamoxifene, cloroquina, o idrossicloroquina, antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, all'individuo non è somministrato un trattamento con anti-VEGF sistemico

antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non ha retinopatia diabetica proliferativa (PDR, Proliferative Diabetic Retinopathy) ad alto rischio nell'occhio in cui sono state somministrate le particelle di rAAV antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, PDR è definita come qualsiasi emorragia vitreale o preretinica, neovascolarizzazione altrove $>1/2$ -area del disco all'interno di un'area equivalente allo standard ETDRS a 7 campi all'esame clinico, o neovascolarizzazione del disco $>1/3$ di area del disco all'esame clinico. In alcuni casi, l'individuo non ha la fotocoagulazione laser focale o a griglia nell'occhio in cui sono state somministrate le particelle di rAAV antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non ha alcuna antecedente fotocoagulazione panretinica (PRP, Pan Retinal Photocoagulation) nell'occhio in cui sono state somministrate le particelle di rAAV antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non ha ricevuto una terapia con anti-VEGF (ad es. iniezioni IVT di aflibercept) nell'occhio in cui sono state somministrate le particelle di rAAV antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non ha ricevuto una terapia con anti-VEGF (ad es. iniezioni IVT di aflibercept) nell'occhio in cui sono state somministrate le particelle di rAAV per almeno 60 giorni antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non ha ricevuto più di due trattamenti con anti-VEGF (ad es., iniezioni IVT di aflibercept) nell'occhio in cui sono state somministrate le particelle di rAAV antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di

particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non ha una storia di alcuna neovascolarizzazione del segmento anteriore (ad es. neovascolarizzazione dell'iride [NVI, NeoVascularization of the Iris] o glaucoma neovascolare [NVG, NeoVascular Glaucoma]), emorragia vitreale significativa, proliferazione fibrovascolare, o distacco retinico trazionale nell'occhio in cui sono state somministrate le particelle di rAAV precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non ha anomalie strutturali nella fovea (ad es. qualsiasi tra essudati duri densi, anomalie del pigmento, atrofia foveale, trazione vitreomaculare o membrana epiretinica) nell'occhio in cui sono state somministrate le particelle di rAAV che contribuiscano a edema maculare o compromissione della vista precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, anomalie strutturali in corrispondenza della fovea sono accertate a un esame clinico od OCT. In alcuni casi, l'individuo non ha una storia di malattia retinica diversa da retinopatia diabetica (ad es. degenerazione maculare legata all'età (nell'uno o l'altro degli occhi), occlusione venosa retinica, occlusione arteriosa retinica, o miopia patologica) nell'occhio in cui sono state somministrate le particelle di rAAV precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non ha una storia di malattia oculare diversa da edema maculare diabetico nell'occhio in cui sono state somministrate le particelle di rAAV, ad es., una cataratta o trazione maculare significative, o evidenza di cataratta sottocapsulare posteriore, precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non ha una storia di estrazione della cataratta o capsulotomia con granato di ittrio e alluminio (YAG) nell'occhio in cui sono state

somministrate le particelle di rAAV entro almeno circa 3 mesi antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non ha una storia di distacco retinico (con o senza riparazione) nell'occhio in cui sono state somministrate le particelle di rAAV antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non ha una storia di alcuno tra trabeculectomia, shunt per glaucoma o chirurgia minimamente invasiva del glaucoma (MIGS, Minimally Invasive Glaucoma Surgery) nell'occhio in cui sono state somministrate le particelle di rAAV antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non ha una storia di vitrectomia o altro intervento chirurgico di filtrazione nell'occhio in cui sono state somministrate le particelle di rAAV antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non ha afachia o presenza di una lente intraoculare nella camera anteriore nell'occhio in cui sono state somministrate le particelle di rAAV antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non ha ipertensione oculare incontrollata o glaucoma nell'occhio in cui sono state somministrate le particelle di rAAV, ad es. IOP >22 mmHg nonostante trattamento con medicinale anti-glaucoma o uso attuale di >2 medicinali di abbassamento della IOP, antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non ha una storia di trattamento con steroide intraoculare o perioculare per alcuna condizione oculare (ad es. IVT Triesence, Iluvien o Ozurdex) nell'occhio in cui sono state somministrate le particelle di rAAV antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di

particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non è stato sottoposto a chirurgia refrattiva nell'occhio in cui sono state somministrate le particelle di rAAV almeno circa 90 giorni antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non ha avuto una previa cheratoplastica penetrante, cheratoplastica endoteliale o radiazione oculare nell'occhio in cui sono state somministrate le particelle di rAAV antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non ha subito alcun antecedente intervento chirurgico vitreoretinico nell'occhio in cui sono state somministrate le particelle di rAAV antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non ha una storia di uveite o infiammazione intraoculare, ad es., di grado traccia o al di sopra, a eccezione di una lieve infiammazione post-operatoria prevista risoltasi, antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non ha una storia di elevazione della IOP che è correlata a somministrazione di steroide topico antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non ha una storia di virus Herpes Simplex (HSV, Herpes Simplex Virus) oculare, virus Varicella-zoster (VZV, Varicella-Zoster Virus) o Cytomegalovirus (CMV), incluse uveite virale, retinite o cheratite, antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non ha evidenza di alcuna infezione oculare esterna, inclusi congiuntivite, calazio o blefarite significativa antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo non ha una storia di toxoplasmosi oculare antecedentemente a una somministrazione della dose

unitaria di particelle di rAAV.

In alcuni casi, la dose unitaria è espressa come numero di genomi di vettore (vg). In alcuni casi, la dose unitaria è circa 6×10^{11} genomi di vettore (vg) o meno delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è espressa come numero di genomi di vettore (vg) per occhio (vg/occhio). In alcuni casi, la dose unitaria è circa 6×10^{11} vg/occhio o meno delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è da circa 6×10^{10} a circa 2×10^{11} vg/occhio. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è di circa 2×10^{11} o di circa 6×10^{10} vg/occhio.

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è somministrata a un occhio dell'individuo. In alcuni casi, l'occhio dell'individuo è l'occhio destro o l'occhio sinistro. In alcuni casi, l'occhio dell'individuo è l'occhio destro. In alcuni casi, l'occhio dell'individuo è l'occhio sinistro. In alcuni casi, i metodi descritti nel presente contesto comprendono inoltre somministrare una dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio controlaterale dell'individuo. In alcuni casi, l'occhio dell'individuo è l'occhio destro e l'occhio controlaterale è l'occhio sinistro. In alcuni casi, l'occhio dell'individuo è l'occhio sinistro e l'occhio controlaterale è l'occhio destro.

In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio controlaterale dell'individuo è fino a circa 2 settimane (ad es. circa 0 giorni, 1 giorno, 2 giorni, 3 giorni, 4 giorni, 5 giorni, 6 giorni, 7 giorni, 8 giorni, 9 giorni, 10 giorni, 11 giorni, 12 giorni, 13 giorni, o 14 giorni) dopo avere somministrato la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio controlaterale dell'individuo è circa la stessa (ad es. meno dell'1% più alta o più bassa, meno

del 5% più alta o più bassa, meno del 10% più alta o più bassa, o meno del 20% più alta o più bassa) o più bassa (ad es. circa il 5%, circa il 10%, circa il 20%, circa il 30%, circa il 40%, circa il 50%, circa il 60%, circa il 70%, circa l'80%, o circa il 90% più bassa) della dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio dell'individuo.

In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio controlaterale è almeno circa 2 settimane (ad es. almeno circa 2 settimane, almeno circa 3 settimane, almeno circa 4 settimane, almeno circa 1 mese, almeno circa 2 mesi, almeno circa 3 mesi, almeno circa 4 mesi, almeno circa 5 mesi, almeno circa 6 mesi, almeno circa 7 mesi, almeno circa 8 mesi, almeno circa 9 mesi, almeno circa 10 mesi, almeno circa 11 mesi, almeno circa 12 mesi, almeno circa 1 anno, almeno circa 2 anni, almeno circa 3 anni, almeno circa 4 anni, almeno circa 5 anni, o più) dopo avere somministrato la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio controlaterale dell'individuo è più alta (ad es. qualsiasi tra circa il 5%, circa il 10%, circa il 20%, circa il 30%, circa il 40%, circa il 50%, circa il 60%, circa il 70%, circa l'80%, circa il 90%, circa il 100%, circa il 125%, circa il 150%, circa il 175%, circa il 200%, circa il 225%, circa il 250%, circa il 275%, circa il 300% o più, più alta) della dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio dell'individuo.

In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono a) un acido nucleico codificante un polipeptide comprendente una sequenza di amminoacidi con almeno circa il 95%, almeno circa il 96%, almeno circa il 97%, almeno circa il 98%, almeno circa il 99%, almeno circa il 99,99%, o il 100% di identità con la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 35 e fiancheggiato da ripetizioni

terminali invertite (ITR) di AAV2, e b) una proteina di capsid di AAV2 comprendente una sequenza di amminoacidi LGETTRP (ID di SEQ n. 14) inserita tra le posizioni 587 e 588 della proteina di capsid, in cui la numerazione dei residui di amminoacidi corrisponde a una proteina di capsid VP1 di AAV2. La sequenza di ID di SEQ n. 35 è fornita nel seguito:

```
SDTGRPFVEMYSEIPEIIHMTEGRELVIPCRVTSFNITVTLKKFPLDTLIPDGKRIIWDSRKGFIISNATY
KEIGLLTCEATVNGHLYKTNLTHRQTNTIIDVVLSPSHGIELSVGEKLVNLCTARTELVNGIDFNWEYPS
SKHQHKKLVNRDLKTQSGSEMKKFLSTLTIDGVTRSDQGLYTCAASSGLMTKKNSTFVRVHEKDKHTHTCPP
CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSL
SLSPG (ID di SEQ n. 35)
```

In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono a) un acido nucleico codificante un polipeptide comprendente una sequenza di amminoacidi con almeno circa il 95% di identità con la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 35 e fiancheggiato da ripetizioni terminali invertite (ITR) di AAV2, e b) una proteina di capsid di AAV2 comprendente una sequenza di amminoacidi LGETTRP (ID di SEQ n. 14) inserita tra le posizioni 587 e 588 della proteina di capsid, in cui la numerazione dei residui di amminoacidi corrisponde a una proteina di capsid VP1 di AAV2.

In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono un acido nucleico codificante un polipeptide comprendente una sequenza di amminoacidi con almeno circa l'80%, almeno circa l'85%, almeno circa il 90%, almeno circa il 95%, almeno circa il 96%, almeno circa il 97%, almeno circa il 98%, almeno circa il 99%, almeno circa il 99,99%, o il 100% di identità con la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 35 e affiancato da ripetizioni terminali invertite (ITR) di AAV2. In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono un acido

nucleico codificante un polipeptide comprendente una sequenza di amminoacidi con almeno circa il 95% di identità con la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 35 e fiancheggiato da ripetizioni terminali invertite (ITR) di AAV2. In alcuni casi, il polipeptide comprende la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 35. In alcuni casi, il polipeptide è aflibercept o una variante funzionale di esso o un frammento funzionale di esso.

In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono un acido nucleico comprendente una sequenza ottimizzata per codone che codifica una sequenza di amminoacidi con almeno circa l'80%, almeno circa l'85%, almeno circa il 90%, almeno circa il 95%, almeno circa il 96%, almeno circa il 97%, almeno circa il 98%, almeno circa il 99%, almeno circa il 99,99%, o il 100% di identità con la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 35 e fiancheggiato da ripetizioni terminali invertite (ITR) di AAV2. In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono un acido nucleico comprendente una sequenza ottimizzata per codone codificante una sequenza di amminoacidi con almeno circa il 95% di identità con la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 35 e fiancheggiato da ripetizioni terminali invertite (ITR) di AAV2. In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono un acido nucleico comprendente una sequenza ottimizzata per codone che codifica una sequenza di amminoacidi con il 100% di identità con la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 35 e fiancheggiato da ripetizioni terminali invertite (ITR) di AAV2.

In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono un acido nucleico comprendente la sequenza di cDNA di aflibercept o una variante funzionale di esso o un frammento funzionale di esso e fiancheggiato da ripetizioni terminali invertite (ITR) di AAV2. In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono un

acido nucleico comprendente una sequenza di cDNA ottimizzata per codone di aflibercept o una variante funzionale di esso o un frammento funzionale di esso e fiancheggiato da ripetizioni terminali invertite (ITR) di AAV2. In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono un acido nucleico comprendente la sequenza di acido nucleico di ID di SEQ n. 36.

In alcuni casi, l'acido nucleico comprende inoltre (a) una prima regione potenziatrice comprendente una sequenza CMV; (b) una regione promotrice comprendente una sequenza CMV; (c) una regione 5'UTR comprendente, nell'ordine da 5' a 3', una sequenza TPL e una sequenza eMLP; (d) una seconda regione potenziatrice comprendente una sequenza EES piena; e (e) un sito di poliadenilazione di HGH. In alcuni casi, la regione potenziatrice comprendente una sequenza CMV comprende la sequenza di ID di SEQ n. 22. In alcuni casi, la regione promotrice comprendente una sequenza CMV comprende la sequenza di ID di SEQ n. 23. In alcuni casi, la sequenza TPL comprende la sequenza di ID di SEQ n. 24. In alcuni casi, la sequenza eMLP comprende la sequenza di ID di SEQ n. 25. In alcuni casi, la seconda regione potenziatrice comprendente una sequenza EES piena comprende la sequenza di ID di SEQ n. 26. In alcuni casi, il sito di poliadenilazione di HGH comprende la sequenza di ID di SEQ n. 27.

In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono una proteina di capsidica di AAV2 comprendente la sequenza di amminoacidi LGETTRP (ID di SEQ n. 14) inserita tra le posizioni 587 e 588 della VP1 di AAV2 comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 13. La sequenza di ID di SEQ n. 13 è fornita nel seguito:

MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLD
 KGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQ
 AKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEHSPVEPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDAD
 SVPDPQPLGQPPAAPSGLTNTMATGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWMGDRVI
 TTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQSGASNDNHYFGYSTPWGYFDENRFHCHFSPRDWQRLI
 NNNWGFPRKRLNFKLEFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQG
 CLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSYTFEDVFP
 HSSYAHSQSLDRMLNPLIDQYLYYLSRTNTPSGTTTQSRLLQFSQAGASDIRDQSRNWLPG
 PCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYHLNGRDSLVPNGPAMASHKDDEEKFFPQSGVL
 IFGKQGSEKTNVDIEKVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNLQRGNRQAATADVNTQGV
 LPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPMLGGFGLKHPPQILIKNTPVPANPSTT
 FSAAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNYNKS VNVDFTVDTNGVY
 SEPRPIGTRYLTRNL (ID di SEQ n. 13)

In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono una proteina di capsid di AAV2 comprendente la sequenza di amminoacidi LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1) inserita tra le posizioni 587 e 588 della proteina di capsid, in cui la numerazione dei residui di amminoacidi corrisponde a una proteina di capsid VP1 di AAV2. In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono una proteina di capsid di AAV2 comprendente la sequenza di amminoacidi LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1) inserita tra le posizioni 587 e 588 della VP1 di AAV2 comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 13.

In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono una proteina di capsid di AAV2 comprendente qualsiasi delle seguenti sequenze di amminoacidi inserite tra le posizioni 587 e 588 della proteina di capsid, in cui la numerazione dei residui di amminoacidi corrisponde a una proteina di capsid VP1 di AAV2: LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1); LANETITRPA (ID di SEQ n. 2), LAKAGQANNA (ID di SEQ n. 3), LAKDPKTTNA (ID di SEQ n. 4),

KDTDTR (ID di SEQ n. 5), RAGGSVG (ID di SEQ n. 6), AVDTTKF (ID di SEQ n. 7), STGKVPN (ID di SEQ n. 8), LAKDTRTRA (ID di SEQ n. 9), LARAGGSVGA (ID di SEQ n. 10), LAAVDTTKFA (ID di SEQ n. 11), LASTGKVPNA (ID di SEQ n. 12), LGETTRP (ID di SEQ n. 14), NETITRP (ID di SEQ n. 15), KAGQANN (ID di SEQ n. 16), KDPKTTN (ID di SEQ n. 17), KDTDTR (ID di SEQ n. 18), RAGGSVG (ID di SEQ n. 19), AVDTTKF (ID di SEQ n. 20), e STGKVPN (ID di SEQ n. 21). In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono una proteina di capsida di AAV2 comprendente qualsiasi delle seguenti sequenze di amminoacidi inserite tra le posizioni 587 e 588 della VP1 di AAV2 comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 13: LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1); LANETITRPA (ID di SEQ n. 2), LAKAGQANNA (ID di SEQ n. 3), LAKDPKTTNA (ID di SEQ n. 4), KDTDTR (ID di SEQ n. 5), RAGGSVG (ID di SEQ n. 6), AVDTTKF (ID di SEQ n. 7), STGKVPN (ID di SEQ n. 8), LAKDTRTRA (ID di SEQ n. 9), LARAGGSVGA (ID di SEQ n. 10), LAAVDTTKFA (ID di SEQ n. 11), LASTGKVPNA (ID di SEQ n. 12), LGETTRP (ID di SEQ n. 14), NETITRP (ID di SEQ n. 15), KAGQANN (ID di SEQ n. 16), KDPKTTN (ID di SEQ n. 17), KDTDTR (ID di SEQ n. 18), RAGGSVG (ID di SEQ n. 19), AVDTTKF (ID di SEQ n. 20), e STGKVPN (ID di SEQ n. 21).

In alcuni casi, la somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo è mediante iniezione intravitreale (IVT), somministrazione intraoculare, o iniezione intraretinica. In alcuni casi, la somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo è mediante iniezione intravitreale (IVT).

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è in una formulazione farmaceutica. In alcuni casi, la formulazione farmaceutica comprende le particelle di rAAV, uno o più agenti di forza osmotica o ionica, uno o più agenti tamponanti, uno o più tensioattivi, e uno o più solventi. In alcuni casi, l'agente di forza osmotica o ionica è cloruro di sodio. In alcuni casi, l'uno o più agenti tamponanti sono fosfato di sodio monobasico e/o fosfato di sodio dibasico. In alcuni casi, il tensioattivo è polossamero 188. In alcuni casi, il solvente è acqua. In alcuni casi, la formulazione farmaceutica comprende le particelle di rAAV, cloruro di sodio, fosfato di sodio e un tensioattivo. In alcuni casi, la formulazione farmaceutica comprende da circa 1×10^{10} vg/ml a circa 1×10^{13} vg/ml di particelle di rAAV. In alcuni casi, la formulazione farmaceutica comprende da circa 6×10^{11} vg/ml a circa 6×10^{12} vg/ml di particelle di rAAV. In alcuni casi, la formulazione farmaceutica comprende da circa 150 mM a circa 200 mM di cloruro di sodio (ad es. qualsiasi tra circa 150 mM, circa 160 mM, circa 170 mM, circa 180 mM, circa 190 mM, o circa 200 mM). In alcuni casi, la formulazione farmaceutica comprende da circa 1 mM a circa 10 mM di fosfato di sodio monobasico (ad es. circa 1 mM, circa 2 mM, circa 3 mM, circa 4 mM, circa 5 mM, circa 6 mM, circa 7 mM, circa 8 mM, circa 9 mM, o circa 10 mM). In alcuni casi, la formulazione farmaceutica comprende da circa 1 mM a circa 10 mM di fosfato di sodio dibasico (ad es. circa 1 mM, circa 2 mM, circa 3 mM, circa 4 mM, circa 5 mM, circa 6 mM, circa 7 mM, circa 8 mM, circa 9 mM, o circa 10 mM). In alcuni casi, la formulazione farmaceutica comprende da circa lo 0,0005% (p/v) a circa lo 0,005% (p/v) di polossamero 188 (ad es., qualsiasi tra circa lo 0,0005% (p/v), lo 0,0006% (p/v), lo 0,0007% (p/v), lo 0,0008% (p/v), lo 0,0009% (p/v), lo 0,001% (p/v), lo 0,002% (p/v), lo 0,003% (p/v), lo 0,004%

(p/v), o circa lo 0,005% (p/v)). In alcuni casi, la formulazione farmaceutica ha un pH da circa 7,0 a circa 7,5 (ad es. qualsiasi tra circa 7,0, circa 7,1, circa 7,2, circa 7,3, circa 7,4, o circa 7,5). In alcuni casi, la formulazione farmaceutica comprende circa 6×10^{12} vg/ml di particelle di rAAV, circa 180 mM di cloruro di sodio, circa 5 mM di fosfato di sodio monobasico, circa 5 mM di fosfato di sodio dibasico, e circa lo 0,001% (p/v) di polossamero 188, in cui la formulazione farmaceutica ha un pH di circa 7,3. In alcuni casi, la formulazione farmaceutica comprende circa 6×10^{11} vg/ml di particelle di rAAV, circa 180 mM di cloruro di sodio, circa 5 mM di fosfato di sodio monobasico, circa 5 mM di fosfato di sodio dibasico, e circa lo 0,001% (p/v) di polossamero 188, in cui la formulazione farmaceutica ha un pH di circa 7,3.

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV comprende un volume tra circa 25 μ l e circa 250 μ l (ad es. qualsiasi tra circa 25 μ l, circa 30 μ l, circa 40 μ l, circa 50 μ l, circa 60 μ l, circa 70 μ l, circa 80 μ l, circa 90 μ l, circa 100 μ l, circa 110 μ l, circa 120 μ l, circa 130 μ l, circa 140 μ l, circa 150 μ l, circa 160 μ l, circa 170 μ l, circa 180 μ l, circa 190 μ l, circa 200 μ l, circa 210 μ l, circa 220 μ l, circa 230 μ l, circa 240 μ l, o circa 250 μ l). In alcuni casi, la concentrazione di particelle di rAAV nella formulazione farmaceutica è regolata in modo tale che il volume della dose unitaria di particelle di rAAV somministrata a un occhio dell'individuo sia tra circa 25 μ l e circa 250 μ l. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV comprende un volume di circa 100 μ l. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV comprende un volume di circa 30 μ l.

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è somministrata in combinazione con trattamento con steroide. In alcuni casi, il trattamento con

steroidi è un trattamento con corticosteroidi. In alcuni casi, il trattamento con steroidi è un trattamento con steroidi sistemici. In alcuni casi, il trattamento con steroidi è un trattamento con steroidi orali. In alcuni casi, il trattamento con steroidi è un trattamento con prednisone. In alcuni casi, il trattamento con steroidi è un trattamento con steroidi oftalmici. In alcuni casi, il trattamento con steroidi oftalmici è un trattamento con steroidi topici (ad es. una goccia), un trattamento con steroidi periorbitari (ad es. sottotenoniano, sottocongiuntivale), un trattamento con steroidi intravitreali, o un trattamento con steroidi sovracoroidali. In alcuni casi, il trattamento con steroidi topici è un trattamento con difluprednato, un trattamento con medrisone, un trattamento con loteprednolo, un trattamento con prednisolone, un trattamento con fluocinolone, un trattamento con triamcinolone, un trattamento con rimexolone, un trattamento con desametasone, un trattamento con fluorometolone, un trattamento con fluocinolone, un trattamento con rimexolone, o un trattamento con prednisone. In alcuni casi, il trattamento con steroidi topici è un trattamento con difluprednato. In alcuni casi, il trattamento con steroidi è somministrato prima, durante, e/o dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il trattamento con steroidi è somministrato prima di una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il trattamento con steroidi è somministrato durante una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il trattamento con steroidi è somministrato dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il trattamento con steroidi è somministrato prima e durante una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il trattamento con steroidi è somministrato

prima e dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il trattamento con steroide è somministrato durante e dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il trattamento con steroide è somministrato prima, durante e dopo la somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV.

In alcuni casi, il trattamento con steroide è un trattamento con steroide oftalmico (ad es. difluprednato). In alcuni casi, il trattamento con steroide oftalmico (ad es. difluprednato) è un trattamento giornaliero con steroide per fino a circa 4 settimane, circa 6 settimane, o circa 8 settimane dalla somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il trattamento con steroide oftalmico comprende circa quattro somministrazioni di steroide oftalmico circa nella settimana 1, circa tre somministrazioni di steroide oftalmico circa nella settimana 2, circa due somministrazioni di steroide oftalmico circa nella settimana 3, e circa una somministrazione di steroide oftalmico circa nella settimana 4; la tempistica iniziando con e seguente una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, lo steroide oftalmico è da circa lo 0,005% a circa lo 0,5% di difluprednato. In alcuni casi, lo steroide oftalmico è qualsiasi tra circa lo 0,005%, circa lo 0,006%, circa lo 0,007%, circa lo 0,008%, circa lo 0,009%, circa lo 0,01%, circa lo 0,02%, circa lo 0,03%, circa lo 0,4%, circa lo 0,05%, circa lo 0,06%, circa lo 0,07%, circa lo 0,08%, circa lo 0,09%, o circa lo 0,1% di difluprednato. In alcuni casi, lo steroide oftalmico è difluprednato allo 0,05%. In alcuni casi, una dose di difluprednato allo 0,05% è una goccia di soluzione oftalmica. In alcuni casi, una goccia è circa 50 µl (ad es. da circa 25 µl a circa 50 µl, da circa 50 µl a circa 100 µl). In alcuni casi, una dose di difluprednato comprende da circa 1 µg a

circa 5 µg, o da circa 2 µg a circa 3 µg, o circa 2,5 µg di difluprednato. In alcuni casi, una dose di difluprednato comprende circa 2,5 µg di difluprednato.

In alcuni casi, il trattamento con steroide è un trattamento con steroide oftalmico (ad es. difluprednato). In alcuni casi, il trattamento con steroide oftalmico (ad es. difluprednato) è un trattamento giornaliero con steroide topico per fino a circa 4 settimane, circa 6 settimane, o circa 8 settimane dalla somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico comprende circa quattro somministrazioni di steroide topico circa alla settimana 1, circa tre somministrazioni di steroide topico circa alla settimana 2, circa due somministrazioni di steroide topico circa alla settimana 3, e circa una somministrazione di steroide topico circa alla settimana 4; la tempistica iniziando con e seguente una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico comprende circa quattro somministrazioni di steroide topico (*cioè*, QID) al giorno per circa 3 settimane dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV, seguite da circa 3 somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, TID) per circa 1 settimana, seguite da circa 2 somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, BID) per circa 1 settimana, e seguite da circa 1 somministrazione di steroide topico al giorno (*cioè*, QD) per circa 1 settimana. In alcuni casi, lo steroide topico comprende difluprednato allo 0,05% a una dose da circa 1 µg a circa 3 µg. In alcuni casi, lo steroide topico comprende difluprednato allo 0,05% a una dose di circa 2,5 µg. In alcuni casi, lo steroide topico è da circa lo 0,005% a circa lo 0,5% di difluprednato. In alcuni casi, lo steroide topico è qualsiasi tra circa lo 0,005%, circa lo 0,006%, circa lo 0,007%, circa lo 0,008%, circa lo 0,009%, circa lo 0,01%, circa lo 0,02%, circa lo 0,03%,

circa lo 0,04%, circa lo 0,05%, circa lo 0,06%, circa lo 0,07%, circa lo 0,08%, circa lo 0,09%, o circa lo 0,1% di difluprednato. In alcuni casi, lo steroide topico è difluprednato allo 0,05%. In alcuni casi, una dose di difluprednato allo 0,05% è una goccia di soluzione oftalmica. In alcuni casi, una goccia è circa 50 µl (ad es. da circa 25 µl a circa 50 µl, da circa 50 µl a circa 100 µl). In alcuni casi, una dose di difluprednato comprende da circa 1 µg a circa 5 µg, o da circa 2 µg a circa 3 µg, o circa 2,5 µg di difluprednato. In alcuni casi, una dose di difluprednato comprende circa 2,5 µg di difluprednato.

In alcuni casi, il fluido retinico nell'occhio dell'individuo (ad es., SRF e/o IRF) è ridotto di più di qualsiasi tra circa il 5%, circa il 10%, circa il 15%, circa il 20%, circa il 30%, circa il 40%, circa il 50%, circa il 60%, circa il 70%, circa l'80%, circa il 90%, o circa il 100% dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o al controlaterale dell'individuo. In alcuni casi, il fluido retinico nell'occhio dell'individuo (ad es., SRF e/o IRF) è ridotto di più di qualsiasi di circa il 5%, circa il 10%, circa il 15%, circa il 20%, circa il 30%, circa il 40%, circa il 50%, circa il 60%, circa il 70%, circa l'80%, circa il 90%, o circa il 100% dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV a un occhio e/o al controlaterale dell'individuo in confronto al livello di fluido retinico nell'occhio dell'individuo precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il fluido retinico nell'occhio dell'individuo (ad es., SRF e/o IRF) è ridotto di circa il 100% dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV a un occhio e/o al controlaterale dell'individuo in confronto al livello di fluido retinico nell'occhio dell'individuo precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV.

In alcuni casi, i metodi descritti nel presente contesto comprendono inoltre monitorare il livello di fluido retinico (ad es. SRF e/o IRF) nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale dell'individuo dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, la riduzione di fluido retinico (ad es. SRF e/o IRF) nell'occhio è dapprima osservata in qualsiasi tra circa 1 giorno, circa 3 giorni, circa 8 giorni, circa 2 settimane, circa 4 settimane, circa 6 settimane, circa 8 settimane, circa 12 settimane, circa 16 settimane, circa 20 settimane, circa 24 settimane, circa 28 settimane, circa 32 settimane, circa 36 settimane, circa 40 settimane, circa 44 settimane, circa 48 settimane, circa 52 settimane, circa 56 settimane, circa 60 settimane, circa 64 settimane, circa 68 settimane, circa 72 settimane, circa 76 settimane, circa 80 settimane, circa 84 settimane, circa 88 settimane, circa 92 settimane, circa 96 settimane, circa 100 settimane, circa 104 settimane, o più dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, la riduzione di fluido retinico (ad es. SRF e/o IRF) nell'occhio continua o è mantenuta per almeno 1 settimana, almeno 2 settimane, almeno 4 settimane, almeno 6 settimane, almeno 8 settimane, almeno 12 settimane, almeno 16 settimane, almeno 20 settimane, almeno 24 settimane, almeno 28 settimane, almeno 32 settimane, almeno 36 settimane, almeno 40 settimane, almeno 44 settimane, almeno 48 settimane, almeno 52 settimane, almeno 56 settimane, almeno 60 settimane, almeno 64 settimane, almeno 68 settimane, almeno 72 settimane, almeno 76 settimane, almeno 80 settimane, almeno 84 settimane, almeno 88 settimane, almeno 92 settimane, almeno 96 settimane, almeno 100 settimane, almeno 104 settimane, o più dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV.

In alcuni casi, la riduzione di fluido retinico (ad es. SRF e/o IRF)

nell'occhio è determinata mediante qualsiasi metodo noto nell'arte. In alcuni casi, la riduzione di fluido retinico (ad es. SRF e/o IRF) nell'occhio è determinata mediante tomografia a coerenza ottica (OCT), OCT a dominio spettrale (SD-OCT), angiografia-OCT, angiografia con fluoresceina, o mediante osservazione retinica diretta. In alcuni casi, la riduzione di fluido retinico (ad es. SRF e/o IRF) nell'occhio è determinata mediante tomografia a coerenza ottica (OCT). In alcuni casi, la riduzione di fluido retinico (ad es. SRF e/o IRF) nell'occhio è determinata mediante OCT a dominio spettrale (SD-OCT). In alcuni casi, la riduzione di fluido retinico (ad es. SRF e/o IRF) nell'occhio è determinata mediante angiografia-OCT. In alcuni casi, la riduzione di fluido retinico (ad es. SRF e/o IRF) nell'occhio è determinata mediante angiografia con fluoresceina. In alcuni casi, la riduzione di fluido retinico (ad es. SRF e/o IRF) nell'occhio è determinata mediante osservazione retinica diretta.

In alcuni casi, un trattamento di una malattia neovascolare oculare in un individuo dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale è accertato in base al livello di fluido retinico (ad es. fluido intraretinico (IRF) e/o fluido sottoretinico (SRF)) in confronto al livello di fluido retinico (ad es. SRF e/o IRF) antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale (ad es. come descritto sopra). In alcuni casi, il fluido retinico è fluido sottoretinico (SRF) o fluido intraretinico (IRF). In alcuni casi, il fluido retinico è fluido sottoretinico (SRF). In alcuni casi, il fluido retinico è fluido intraretinico (IRF). In alcuni casi, un trattamento di una malattia neovascolare oculare in un individuo dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale è determinato se è

osservata una riduzione di fluido retinico (ad es. IRF e/o SRF) dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale in confronto ai livelli di fluido retinico (ad es. IRF e/o SRF) antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale (ad es. come descritto sopra). In alcuni casi, la malattia neovascolare oculare è wAMD.

In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato mantenimento o una diminuzione di spessore retinico in confronto allo spessore retinico antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico in confronto allo spessore retinico antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, lo spessore retinico è lo spessore del sottocampo centrale (CST) o lo spessore retinico centrale (CRT). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico di più di qualsiasi tra circa il 5%, circa il 10%, circa il 15%, circa il 20%, circa il 25%, circa il 30%, circa il 35%, circa il 40%, circa il 45%, circa il 50%, circa il 55%, circa il 60%, circa il 65%, circa il 70%, circa il 75%, circa l'80%, circa l'85%, circa il 90%, circa il 95%, circa il 99%, o circa il 100% in confronto allo spessore retinico antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, lo spessore retinico (ad es. CST o CRT) è determinato mediante OCT o SD-OCT.

In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) da circa 10 μm a circa 100 μm (ad es. di più di qualsiasi tra circa 10 μm , circa 15 μm , circa 20 μm , circa 25 μm , circa 30 μm , circa 35 μm , circa 40 μm , circa 45 μm , circa 50 μm , circa 55 μm , circa 60 μm , circa 65 μm , circa 70 μm , circa 75 μm , circa 80 μm , circa 85 μm , circa 90 μm , circa 95 μm , circa 100 μm , o più). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) da circa 5 μm a circa 50 μm (ad es. qualsiasi tra circa 5 μm , circa 10 μm , circa 15 μm , circa 20 μm , circa 25 μm , circa 30 μm , circa 35 μm , circa 40 μm , circa 45 μm , o circa 50 μm). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) da circa 5 μm a circa 40 μm (ad es. qualsiasi tra circa 5 μm , circa 10 μm , circa 15 μm , circa 20 μm , circa 25 μm , circa 30 μm , circa 35 μm , o circa 40 μm). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) da circa 5 μm a circa 30 μm (ad es. qualsiasi tra circa 5 μm , circa 6 μm , circa 7 μm , circa 8 μm , circa 9 μm , circa 10 μm , circa 11 μm , circa 12 μm , circa 13 μm , circa 14 μm , circa 15 μm , circa 16 μm , circa 17 μm , circa 18 μm , circa 19 μm , circa 20 μm , circa 21 μm , circa 22 μm , circa 23 μm , circa 24 μm , circa 25 μm , circa 26 μm , circa 27 μm , circa

28 μm , circa 29 μm , o circa 30 μm). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) da circa 5 μm a circa 25 μm (ad es. qualsiasi tra circa 5 μm , circa 6 μm , circa 7 μm , circa 8 μm , circa 9 μm , circa 10 μm , circa 11 μm , circa 12 μm , circa 13 μm , circa 14 μm , circa 15 μm , circa 16 μm , circa 17 μm , circa 18 μm , circa 19 μm , circa 20 μm , circa 21 μm , circa 22 μm , circa 23 μm , circa 24 μm , o circa 25 μm). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) da circa 5 μm a circa 20 μm (ad es. qualsiasi tra circa 5 μm , circa 6 μm , circa 7 μm , circa 8 μm , circa 9 μm , circa 10 μm , circa 11 μm , circa 12 μm , circa 13 μm , circa 14 μm , circa 15 μm , circa 16 μm , circa 17 μm , circa 18 μm , circa 19 μm , o circa 20 μm). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) tra circa 18 μm e circa 75 μm . In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa 18,5 μm . In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa 21,0 μm . In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o

all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa 8,3 μm . In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa 25,5 μm . In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa 24,8 μm . In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa 75 μm . In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa 100 μm o più (ad es. qualsiasi tra circa 100 μm o più, circa 110 μm o più, circa 120 μm o più, circa 130 μm o più, circa 140 μm o più, circa 150 μm o più, circa 160 μm o più, circa 170 μm o più, circa 180 μm o più, circa 190 μm o più, o circa 200 μm o più). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) tra circa 10 μm e circa 200 μm (ad es. qualsiasi tra circa 10 μm , circa 20 μm , circa 30 μm , circa 40 μm , circa 50 μm , circa 60 μm , circa 70 μm , circa 80 μm , circa 90 μm , circa 100 μm , circa 110 μm , circa 120 μm , circa 130 μm , circa 140 μm , circa 150 μm , circa 160 μm , circa 170 μm , circa 180 μm ,

circa 190 μm , o circa 200 μm). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) tra circa 50 μm e circa 200 μm (ad es. qualsiasi tra circa 50 μm , circa 60 μm , circa 70 μm , circa 80 μm , circa 90 μm , circa 100 μm , circa 110 μm , circa 120 μm , circa 130 μm , circa 140 μm , circa 150 μm , circa 160 μm , circa 170 μm , circa 180 μm , circa 190 μm , o circa 200 μm). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) tra circa 60 μm e circa 200 μm (ad es. qualsiasi tra circa 60 μm , circa 70 μm , circa 80 μm , circa 90 μm , circa 100 μm , circa 110 μm , circa 120 μm , circa 130 μm , circa 140 μm , circa 150 μm , circa 160 μm , circa 170 μm , circa 180 μm , circa 190 μm , o circa 200 μm). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) tra circa 70 μm e circa 200 μm (ad es. qualsiasi tra circa 70 μm , circa 80 μm , circa 90 μm , circa 100 μm , circa 110 μm , circa 120 μm , circa 130 μm , circa 140 μm , circa 150 μm , circa 160 μm , circa 170 μm , circa 180 μm , circa 190 μm , o circa 200 μm). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) tra circa 80 μm e circa 200 μm (ad es. qualsiasi tra circa 80 μm , circa 90 μm , circa 100 μm , circa 110 μm , circa 120 μm , circa 130 μm , circa 140 μm , circa 150 μm , circa 160 μm ,

circa 170 μm , circa 180 μm , circa 190 μm , o circa 200 μm). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) tra circa 90 μm e circa 200 μm (ad es. qualsiasi tra circa 90 μm , circa 100 μm , circa 110 μm , circa 120 μm , circa 130 μm , circa 140 μm , circa 150 μm , circa 160 μm , circa 170 μm , circa 180 μm , circa 190 μm , o circa 200 μm). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) tra circa 100 μm e circa 200 μm (ad es. qualsiasi tra circa 100 μm , circa 110 μm , circa 120 μm , circa 130 μm , circa 140 μm , circa 150 μm , circa 160 μm , circa 170 μm , circa 180 μm , circa 190 μm , o circa 200 μm). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) tra circa 110 μm e circa 200 μm (ad es. qualsiasi tra circa 110 μm , circa 120 μm , circa 130 μm , circa 140 μm , circa 150 μm , circa 160 μm , circa 170 μm , circa 180 μm , circa 190 μm , o circa 200 μm). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) tra circa 115 μm e circa 200 μm (ad es. qualsiasi tra circa 115 μm , circa 120 μm , circa 125 μm , circa 130 μm , circa 135 μm , circa 140 μm , circa 145 μm , circa 150 μm , circa 155 μm , circa 160 μm , circa 165 μm , circa 170 μm , circa 175 μm , circa 180 μm , circa 185 μm , circa 190 μm , circa 195 μm ,

o circa 200 μm). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) tra circa 120 μm e circa 200 μm (ad es. qualsiasi tra circa 120 μm , circa 125 μm , circa 130 μm , circa 135 μm , circa 140 μm , circa 145 μm , circa 150 μm , circa 155 μm , circa 160 μm , circa 165 μm , circa 170 μm , circa 175 μm , circa 180 μm , circa 185 μm , circa 190 μm , circa 195 μm , o circa 200 μm). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) tra circa 125 μm e circa 200 μm (ad es. qualsiasi tra circa 125 μm , circa 130 μm , circa 135 μm , circa 140 μm , circa 145 μm , circa 150 μm , circa 155 μm , circa 160 μm , circa 165 μm , circa 170 μm , circa 175 μm , circa 180 μm , circa 185 μm , circa 190 μm , circa 195 μm , o circa 200 μm). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) tra circa 130 μm e circa 200 μm (ad es. qualsiasi tra circa 130 μm , circa 135 μm , circa 140 μm , circa 145 μm , circa 150 μm , circa 155 μm , circa 160 μm , circa 165 μm , circa 170 μm , circa 175 μm , circa 180 μm , circa 185 μm , circa 190 μm , circa 195 μm , o circa 200 μm). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) tra circa 135 μm e circa 200 μm (ad es. qualsiasi tra circa 135 μm , circa 140 μm , circa 145 μm , circa 150 μm , circa 155 μm , circa

160 μm , circa 165 μm , circa 170 μm , circa 175 μm , circa 180 μm , circa 185 μm , circa 190 μm , circa 195 μm , o circa 200 μm). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) tra circa 140 μm e circa 200 μm (ad es. qualsiasi tra circa 140 μm , circa 145 μm , circa 150 μm , circa 155 μm , circa 160 μm , circa 165 μm , circa 170 μm , circa 175 μm , circa 180 μm , circa 185 μm , circa 190 μm , circa 195 μm , o circa 200 μm). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) tra circa 145 μm e circa 200 μm (ad es. qualsiasi tra circa 145 μm , circa 150 μm , circa 155 μm , circa 160 μm , circa 165 μm , circa 170 μm , circa 175 μm , circa 180 μm , circa 185 μm , circa 190 μm , circa 195 μm , o circa 200 μm). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) tra circa 150 μm e circa 200 μm (ad es. qualsiasi tra circa 150 μm , circa 155 μm , circa 160 μm , circa 165 μm , circa 170 μm , circa 175 μm , circa 180 μm , circa 185 μm , circa 190 μm , circa 195 μm , o circa 200 μm). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) tra circa 155 μm e circa 200 μm (ad es. qualsiasi tra circa 155 μm , circa 160 μm , circa 165 μm , circa 170 μm , circa 175 μm , circa 180 μm , circa 185 μm , circa 190 μm , circa 195 μm ,

o circa 200 μm). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) tra circa 160 μm e circa 200 μm (ad es. qualsiasi tra circa 160 μm , circa 165 μm , circa 170 μm , circa 175 μm , circa 180 μm , circa 185 μm , circa 190 μm , circa 195 μm , o circa 200 μm). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) tra circa 165 μm e circa 200 μm (ad es. qualsiasi tra circa 165 μm , circa 170 μm , circa 175 μm , circa 180 μm , circa 185 μm , circa 190 μm , circa 195 μm , o circa 200 μm). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) tra circa 170 μm e circa 200 μm (ad es. qualsiasi tra circa 170 μm , circa 175 μm , circa 180 μm , circa 185 μm , circa 190 μm , circa 195 μm , o circa 200 μm). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) tra circa 175 μm e circa 200 μm (ad es. qualsiasi tra circa 175 μm , circa 180 μm , circa 185 μm , circa 190 μm , circa 195 μm , o circa 200 μm). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) tra circa 180 μm e circa 200 μm (ad es. qualsiasi tra circa 180 μm , circa 185 μm , circa

190 μm , circa 195 μm , o circa 200 μm). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa 21,0 μm in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa 8,3 μm in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa 26,2 μm in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa 24,8 μm in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una

diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa 40,8 μm in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa 30,0 μm in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa 118,6 μm in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa 119,0 μm in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa 137,8 μm in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del

sottocampo centrale (CST) antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa 152,7 μm in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa 153,3 μm in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa 149,8 μm in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV.

In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un cambiamento dello spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) tra circa -200 μm e circa +40 μm (ad es. qualsiasi tra circa -200 μm , circa -180 μm , circa -160 μm , circa -140 μm , circa -120 μm , circa -100 μm , circa -80 μm , circa -60 μm , circa -40 μm , circa -20 μm , circa 0 μm ,

circa +5 μm , circa +10 μm , circa +15 μm , circa +20 μm , circa +25 μm , circa +30 μm , circa +35 μm , o circa +40 μm) in confronto allo spessore retinico precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di qualsiasi tra circa 8 μm , circa 11 μm , circa 16 μm , circa 29 μm , circa 33 μm , circa 38 μm , circa 55 μm , circa 61 μm , o circa 117 μm . In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di qualsiasi tra circa 27,8 μm o circa 30,8 μm . In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un aumento dello spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di qualsiasi tra circa 4 μm , circa 12 μm , o circa 32 μm . In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un cambiamento dello spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa -21,0 μm in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un cambiamento dello spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa -8,3 μm in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del

sottocampo centrale (CST) antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un cambiamento dello spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa $-26,2 \mu\text{m}$ in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un cambiamento dello spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa $-24,8 \mu\text{m}$ in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un cambiamento dello spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa $-40,8 \mu\text{m}$ in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un cambiamento dello spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa $-30,0 \mu\text{m}$ in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV

all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un cambiamento dello spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa -118,6 μm in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un cambiamento dello spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa -119,0 μm in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un cambiamento dello spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa -137,8 μm in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un cambiamento dello spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa -152,7 μm in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un cambiamento dello spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa -

153,3 μm in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un cambiamento dello spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa -149,8 μm in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV.

In alcuni casi, il cambiamento (ad es. la diminuzione) dello spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV è presente in qualsiasi tra circa 1 giorno, circa 1 settimana, circa 2 settimane, circa 4 settimane, circa 8 settimane, circa 16 settimane, circa 24 settimane, circa 30 settimane, circa 32 settimane, circa 34 settimane, circa 40 settimane, circa 44 settimane, circa 48 settimane, circa 52 settimane, o più dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo. In alcuni casi, il cambiamento (ad es. la diminuzione) dello spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV è presente in qualsiasi tra circa 1 giorno, circa 1 settimana, circa 2 settimane, circa 4 settimane, circa 8 settimane, circa 12 settimane, circa 16 settimane, circa 20 settimane, circa 24

settimane, circa 28 settimane, circa 32 settimane, circa 36 settimane, circa 40 settimane, circa 44 settimane, circa 48 settimane, circa 52 settimane, circa 56 settimane, circa 60 settimane, circa 64 settimane, circa 68 settimane, circa 72 settimane, circa 76 settimane, circa 80 settimane, circa 84 settimane, circa 88 settimane, circa 92 settimane, circa 96 settimane, circa 100 settimane, circa 104 settimane, circa 108 settimane, o più dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo.

In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di più di qualsiasi tra circa il 5%, circa il 10%, circa il 15%, circa il 20%, circa il 25%, circa il 30%, circa il 35%, circa il 40%, circa il 45%, circa il 50%, circa il 55%, circa il 60%, circa il 65%, circa il 70%, circa il 75%, circa l'80%, circa l'85%, circa il 90%, circa il 95%, circa il 99%, o circa il 100% in confronto allo spessore retinico precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di almeno circa il 10% in confronto allo spessore retinico precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa il 15% o più in confronto allo spessore retinico

antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV.

In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un aumento di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) minore di circa 40 μm (ad es. qualsiasi tra meno di circa 40 μm , meno di circa 35 μm , meno di circa 30 μm , meno di circa 25 μm , meno di circa 20 μm , meno di circa 15 μm , meno di circa 10 μm , meno di circa 5 μm , meno di circa 1 μm , o meno) in confronto allo spessore retinico precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un aumento di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) di circa 32 μm o meno in confronto allo spessore retinico precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV.

In alcuni casi, il mantenimento, la diminuzione, o l'aumento di spessore retinico in confronto allo spessore retinico precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV è presente a circa 30 settimane o più dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo. In alcuni casi, il mantenimento, la diminuzione, o l'aumento di spessore retinico in confronto allo spessore retinico precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV è presente a qualsiasi tra circa 30 settimane, circa 34 settimane, circa 44 settimane, circa 6 mesi, circa 1 anno, circa 1,5 anni, circa 2 anni, circa 3 anni, circa 5 anni, circa 10 anni, o più, dopo una somministrazione

della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo.

In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un mantenimento o una diminuzione di volume maculare in confronto al volume maculare precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione del volume maculare in confronto al volume maculare precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di volume maculare di più di qualsiasi tra circa il 5%, circa il 10%, circa il 15%, circa il 20%, circa il 25%, circa il 30%, circa il 35%, circa il 40%, circa il 45%, o circa il 50% in confronto al volume maculare precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di volume maculare di almeno circa il 10% in confronto al volume maculare precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il volume maculare è determinato mediante OCT o SD-OCT. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di volume maculare di almeno circa il 10% in confronto al volume maculare precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di

particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di volume maculare di circa il 15% o più in confronto al volume maculare antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il volume maculare è determinato mediante OCT o SD-OCT.

In alcuni casi, il mantenimento o la diminuzione di volume maculare in confronto al volume maculare antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV è presente a circa 30 settimane o più dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo. In alcuni casi, il mantenimento o la diminuzione di volume maculare in confronto al volume maculare antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV è presente a qualsiasi tra circa 30 settimane, circa 34 settimane, circa 44 settimane, circa 6 mesi, circa 1 anno, circa 1,5 anni, circa 2 anni, circa 3 anni, circa 5 anni, circa 10 anni, o più dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo.

In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un mantenimento o un miglioramento di acuità visiva in confronto all'acuità visiva antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un miglioramento dell'acuità visiva in confronto all'acuità visiva antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il

somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un miglioramento di acuità visiva di più di qualsiasi tra circa il 5%, circa il 10%, circa il 20%, circa il 30%, circa il 40%, circa il 50%, circa il 60%, circa il 70%, circa l'80%, circa il 90%, circa il 100%, circa il 125%, circa il 150%, circa il 175%, circa il 200%, circa il 225%, circa il 250%, circa il 275%, circa il 300%, o più, in confronto all'acuità visiva antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'acuità visiva è la migliore acuità visiva corretta (BCVA). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un miglioramento di BCVA in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, la BCVA è espressa come punteggio ETDRS, che corrisponde al numero di lettere lette correttamente (Vitale *et al.*, (2016) JAMA Ophthalmol 134(9):1041:1047).

In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un miglioramento di BCVA di almeno 15 lettere ETDRS (Vitale *et al.*, (2016) JAMA Ophthalmol 134(9):1041:1047) (ad es. almeno circa 15, almeno circa 20, almeno circa 30, almeno circa 40, almeno circa 50, almeno circa 60, o circa 70 lettere) in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un miglioramento di BCVA tra circa 1 e circa 15 (ad es. qualsiasi tra circa 1, circa 2, circa 3, circa 4, circa 5, circa 6, circa 7, circa 8, circa 9, circa 10, circa 11, circa 12, circa 13, circa 14, o circa 15) lettere ETDRS in confronto alla

BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un miglioramento di BCVA di circa 5 lettere ETDRS in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un miglioramento di BCVA di qualsiasi tra circa 1, circa 2, circa 3, circa 4, circa 5, circa 6, o circa 7 lettere ETDRS in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un miglioramento di BCVA di circa 3 lettere ETDRS o più in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un miglioramento di BCVA di circa 4 lettere ETDRS o più in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un miglioramento di BCVA di circa 5,1 lettere ETDRS o più in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un miglioramento di BCVA di circa 6,4 lettere ETDRS o più in confronto alla BCVA antecedentemente a una

somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un miglioramento di BCVA di circa 6,8 lettere ETDRS in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un miglioramento di BCVA di circa 8,8 lettere ETDRS in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un miglioramento di BCVA di circa 2,3 lettere ETDRS in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV.

In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un mantenimento di BCVA, in cui l'individuo perde meno di 15 lettere ETDRS (Vitale *et al.*, (2016) JAMA Ophthalmol 134(9):1041:1047) (ad es. qualsiasi tra 15 o meno, 14 o meno, 13 o meno, 12 o meno, 11 o meno, 10 o meno, 9 o meno, 8 o meno, 7 o meno, 6 o meno, 5 o meno, 4 o meno, 3 o meno, 2 o meno, 1, o 0 lettere) in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un mantenimento di BCVA, in cui l'individuo perde circa 2 lettere in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose

unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un mantenimento di BCVA, in cui l'individuo perde qualsiasi tra circa 1, circa 2, circa 3, circa 4, circa 5, circa 6, circa 7, circa 8, o circa 9 lettere ETDRS in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un mantenimento di BCVA, in cui l'individuo perde 0 lettere in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un mantenimento di BCVA, in cui l'individuo perde circa 1 lettera in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un mantenimento di BCVA, in cui l'individuo perde circa 2,7 lettere in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un mantenimento di BCVA, in cui l'individuo perde circa 2,8 lettere in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un mantenimento di BCVA, in cui l'individuo perde circa 2 lettere o meno in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di

rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un mantenimento di BCVA, in cui l'individuo perde circa 3,2 lettere o meno in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un mantenimento di BCVA, in cui l'individuo perde tra circa 15 e circa 0 lettere (ad es. qualsiasi tra circa 15, circa 14, circa 13, circa 12, circa 11, circa 10, circa 9, circa 8, circa 7, circa 6, circa 5, circa 4, circa 3, circa 2, circa 1, o 0 lettere) in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un mantenimento di BCVA, in cui l'individuo perde tra circa 10 e circa 0 lettere (ad es. qualsiasi tra circa 10, circa 9, circa 8, circa 7, circa 6, circa 5, circa 4, circa 3, circa 2, circa 1, o 0 lettere) in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un mantenimento di BCVA, in cui l'individuo perde tra circa 5 e circa 0 lettere (ad es. qualsiasi tra circa 5, circa 4, circa 3, circa 2, circa 1, o 0 lettere) in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un mantenimento di BCVA, in cui l'individuo perde tra circa 4 e circa 0 lettere (ad es. qualsiasi tra circa 4, circa 3, circa 2, circa 1, o 0 lettere) in confronto alla

BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un mantenimento di BCVA, in cui l'individuo perde tra circa 3 e circa 0 lettere (ad es. qualsiasi tra circa 3, circa 2, circa 1, o 0 lettere) in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un mantenimento di BCVA, in cui l'individuo perde tra circa 2 e circa 0 lettere (ad es. qualsiasi tra circa 2, circa 1, o 0 lettere) in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un mantenimento di BCVA, in cui l'individuo perde tra circa 1 e circa 0 lettere in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV.

In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un cambiamento di BCVA tra circa -20 e +7 o più (ad es. qualsiasi tra -20, -19, -18, -17, -16, -15, -14, -13, -12, -11, -10, -9, -8, -7, -6, -5, -4, -3, -2, -1, 0, +1, +2, +3, +4, +5, +6, +7, +8, +9, +10, +11, +12, +13, +14, +15, +16, +17, +18, +19, +20, o più) lettere ETDRS, in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un aumento di BCVA di circa

qualsiasi tra 16, 7 o 5 lettere ETDRS in confronto alla BCVA precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di BCVA di circa qualsiasi tra 19, 14, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 lettera ETDRS in confronto alla BCVA precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di BCVA di circa 4,8 o circa 0,8 lettere ETDRS in confronto alla BCVA precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di BCVA di circa 2 lettere ETDRS o meno in confronto alla BCVA precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una diminuzione di BCVA di circa 3,2 lettere ETDRS o meno in confronto alla BCVA precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV.

In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un cambiamento di BCVA tra circa -15 e +7 o più (ad es. qualsiasi tra -15, -14, -13, -12, -11, -10, -9, -8, -7, -6, -5, -4, -3, -2, -1, 0, +1, +2, +3, +4, +5, +6, +7, +8, +9, +10, +11, +12, +13, +14, +15, +16, +17, +18, +19, +20, o più) lettere ETDRS, in confronto alla BCVA precedentemente a una somministrazione della dose

unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un cambiamento di BCVA tra circa -10 e +7 o più (ad es. qualsiasi tra -10, -9, -8, -7, -6, -5, -4, -3, -2, -1, 0, +1, +2, +3, +4, +5, +6, +7, +8, +9, +10, +11, +12, +13, +14, +15, +16, +17, +18, +19, +20, o più) lettere ETDRS, in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un cambiamento di BCVA tra circa -5 e +7 o più (ad es. qualsiasi tra -5, -4, -3, -2, -1, 0, +1, +2, +3, +4, +5, +6, +7, +8, +9, +10, +11, +12, +13, +14, +15, +16, +17, +18, +19, +20, o più) lettere ETDRS, in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un cambiamento di BCVA tra circa -4 e +7 o più (ad es. qualsiasi tra -4, -3, -2, -1, 0, +1, +2, +3, +4, +5, +6, +7, +8, +9, +10, +11, +12, +13, +14, +15, +16, +17, +18, +19, +20, o più) lettere ETDRS, in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un cambiamento di BCVA tra circa -3 e +7 o più (ad es. qualsiasi tra -3, -2, -1, 0, +1, +2, +3, +4, +5, +6, +7, +8, +9, +10, +11, +12, +13, +14, +15, +16, +17, +18, +19, +20, o più) lettere ETDRS, in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un

cambiamento di BCVA tra circa -2 e +7 o più (ad es. qualsiasi tra -2, -1, 0, +1, +2, +3, +4, +5, +6, +7, +8, +9, +10, +11, +12, +13, +14, +15, +16, +17, +18, +19, +20, o più) lettere ETDRS, in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un cambiamento di BCVA tra circa -1 e +7 o più (ad es. qualsiasi tra -1, 0, +1, +2, +3, +4, +5, +6, +7, +8, +9, +10, +11, +12, +13, +14, +15, +16, +17, +18, +19, +20, o più) lettere ETDRS, in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un cambiamento di BCVA tra circa 0 e +7 o più (ad es. qualsiasi tra 0, +1, +2, +3, +4, +5, +6, +7, +8, +9, +10, +11, +12, +13, +14, +15, +16, +17, +18, +19, +20, o più) lettere ETDRS, in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un cambiamento di BCVA tra circa +1 e +7 o più (ad es. qualsiasi tra +1, +2, +3, +4, +5, +6, +7, +8, +9, +10, +11, +12, +13, +14, +15, +16, +17, +18, +19, +20, o più) lettere ETDRS, in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un cambiamento di BCVA tra circa +2 e +7 o più (ad es. qualsiasi tra +2, +3, +4, +5, +6, +7, +8, +9, +10, +11, +12, +13, +14, +15, +16, +17, +18, +19, +20, o più) lettere ETDRS, in confronto alla BCVA antecedentemente a

una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un cambiamento di BCVA tra circa +3 e +7 o più (ad es. qualsiasi tra +3, +4, +5, +6, +7, +8, +9, +10, +11, +12, +13, +14, +15, +16, +17, +18, +19, +20, o più) lettere ETDRS, in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un cambiamento di BCVA tra circa +4 e +7 o più (ad es. qualsiasi tra +4, +5, +6, +7, +8, +9, +10, +11, +12, +13, +14, +15, +16, +17, +18, +19, +20, o più) lettere ETDRS, in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un cambiamento di BCVA tra circa +5 e +7 o più (ad es. qualsiasi tra +5, +6, +7, +8, +9, +10, +11, +12, +13, +14, +15, +16, +17, +18, +19, +20, o più) lettere ETDRS, in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un cambiamento di BCVA di circa +6 o circa +7 lettere ETDRS, in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV.

In alcuni casi, una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato infiammazione transitoria (ad es. infiammazione guidata da cellule dell'acqueo e/o cellule vitreali, flare acqueo, sinechie posteriori, scarsa dilatazione

pupillare). In alcuni casi, una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato infiammazione (ad es. infiammazione guidata da cellule dell'acqueo e/o cellule vitreali, flare acqueo, sinechie posteriori, scarsa dilatazione pupillare) che è migliorata dopo una somministrazione di trattamento con steroide orale e/o topico e/o midriatici. In alcuni casi, una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato infiammazione (ad es. infiammazione guidata da cellule dell'acqueo e/o cellule vitreali) che si risolve dopo una somministrazione di trattamento con steroide orale e/o topico. Un'infiammazione (ad es. infiammazione guidata da cellule dell'acqueo e/o cellule vitreali, flare acquoso, sinechie posteriori, scarsa dilatazione pupillare) può essere misurata usando qualsiasi metodo noto nell'arte, come l'esame con lampada a fessura.

In alcuni casi, il mantenimento o il miglioramento di acuità visiva (ad es. BCVA) in confronto all'acuità visiva antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV è presente in qualsiasi tra circa 1 giorno, circa 1 settimana, circa 2 settimane, circa 4 settimane, circa 8 settimane, circa 12 settimane, circa 16 settimane, circa 20 settimane, circa 24 settimane, circa 28 settimane, circa 32 settimane, circa 36 settimane, circa 40 settimane, circa 44 settimane, circa 48 settimane, circa 52 settimane, circa 56 settimane, circa 60 settimane, circa 64 settimane, circa 68 settimane, circa 72 settimane, circa 76 settimane, circa 80 settimane, circa 84 settimane, circa 88 settimane, circa 92 settimane, circa 96 settimane, circa 100 settimane, circa 104 settimane, circa 108 settimane, o più, dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo. In alcuni

casi, il mantenimento o il miglioramento di acuità visiva (ad es. BCVA) in confronto all'acuità visiva antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV è presente a circa 30 settimane o più dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo. In alcuni casi, il mantenimento o il miglioramento di acuità visiva (ad es. BCVA) in confronto all'acuità visiva antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV è presente a qualsiasi tra circa 30 settimane, circa 34 settimane, circa 44 settimane, circa 6 mesi, circa 1 anno, circa 1,5 anni, circa 2 anni, circa 3 anni, circa 5 anni, circa 10 anni, o più, dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo.

In alcuni casi, un trattamento di una malattia neovascolare oculare in un individuo dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale è accertato in base alla migliore acuità visiva corretta (BCVA) nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, la BCVA è espressa come punteggio ETDRS, che corrisponde al numero di lettere lette correttamente (Vitale *et al.*, (2016) JAMA Ophthalmol 134(9):1041:1047). In alcuni casi, è determinato che un individuo ha mantenimento di vista e/o acuità visiva se l'individuo perde meno di 15 lettere in un punteggio ETDRS (ad es. qualsiasi tra 15 o meno, 14 o meno, 13 o meno, 12 o meno, 11 o meno, 10 o meno, 9 o meno, 8 o meno, 7 o meno, 6 o meno, 5 o meno, 4 o meno, 3 o meno, 2 o meno, 1, o 0 lettere) in confronto ad antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, è determinato che un individuo ha un miglioramento di vista e/o acuità visiva se l'individuo

guadagna almeno 15 lettere (ad es. qualsiasi tra almeno circa 15, almeno circa 20, almeno circa 30, almeno circa 40, almeno circa 50, almeno circa 60, o circa 70 lettere) in confronto ad antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale.

In alcuni casi, un trattamento di una malattia neovascolare oculare in un individuo dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale è accertato in base allo spessore del sottocampo centrale (CST) o spessore retinico centrale (CRT) nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, CST o CRT è determinato mediante SD-OCT. In alcuni casi, un trattamento di una malattia neovascolare oculare in un individuo dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale è determinato se il CST o CRT accertato mediante SD-OCT è diminuito dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale in confronto ad antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, un trattamento di una malattia neovascolare oculare in un individuo dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale è determinato se il CST o CRT accertato mediante SD-OCT è mantenuto dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale in confronto ad antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale.

In alcuni casi, un trattamento di una malattia neovascolare oculare in un individuo dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV

nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale è accertato in base al volume maculare nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, il volume maculare è determinato mediante SD-OCT. In alcuni casi, un trattamento di una malattia neovascolare oculare in un individuo dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale è determinato se il volume maculare accertato mediante SD-OCT è diminuito dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale in confronto ad antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, un trattamento di una malattia neovascolare oculare in un individuo dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale è determinato se il volume maculare accertato mediante SD-OCT è mantenuto dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale in confronto ad antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale.

In alcuni casi, un trattamento di una malattia neovascolare oculare in un individuo dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale è accertato in base allo spessore retinico (ad es. spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST)) e al volume maculare nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, CST e volume maculare sono determinati mediante SD-OCT. In alcuni casi, un trattamento di una malattia neovascolare oculare in un individuo dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio

e/o nell'occhio controlaterale è determinato se il CST e volume maculare accertati mediante SD-OCT sono diminuiti dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale in confronto ad antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, un trattamento di una malattia neovascolare oculare in un individuo dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale è determinato se il CST e volume maculare accertati mediante SD-OCT sono mantenuti dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale in confronto ad antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale.

In alcuni casi, un trattamento di una malattia neovascolare oculare in un individuo dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale è accertato in base al numero di trattamenti di terapia di salvataggio (ad es. iniezioni di aflibercept) richiesti dall'individuo dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, un trattamento di una malattia neovascolare oculare in un individuo dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale è determinato se un individuo richiede meno di un trattamento di terapia di salvataggio (ad es. iniezione di aflibercept) a qualsiasi tra ogni 4 settimane, ogni 5 settimane, ogni 6 settimane, ogni 7 settimane, ogni 8 settimane, ogni 9 settimane, ogni 10 settimane, o più, dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale.

In alcuni casi, un trattamento di una malattia neovascolare oculare in un individuo dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale è determinato se un individuo non richiede alcun trattamento di terapia di salvataggio (ad es. iniezione di aflibercept) per qualsiasi tra almeno 1 settimana, almeno 2 settimane, almeno 3 settimane, almeno 4 settimane, almeno 5 settimane, almeno 6 settimane, almeno 7 settimane, almeno 8 settimane, almeno 9 settimane, almeno 10 settimane, almeno 15 settimane, almeno 20 settimane, almeno 30 settimane, almeno 40 settimane, almeno 50 settimane, almeno 60 settimane, almeno 70 settimane, almeno 80 settimane, almeno 90 settimane, almeno 100 settimane, almeno 110 settimane, o più, dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale.

In alcuni casi, l'individuo non richiede alcun trattamento di terapia di salvataggio (ad es. iniezione di aflibercept) per qualsiasi tra almeno circa 24 mesi, almeno circa 23 mesi, almeno circa 22 mesi, almeno circa 21 mesi, almeno circa 20 mesi, almeno circa 19 mesi, almeno circa 18 mesi, almeno circa 17 mesi, almeno circa 16 mesi, almeno circa 15 mesi, almeno circa 14 mesi, almeno circa 13 mesi, almeno circa 12 mesi, almeno circa 11 mesi, almeno circa 10 mesi, almeno circa 9 mesi, almeno circa 8 mesi, almeno circa 7 mesi, almeno circa 6 mesi, almeno circa 5 mesi, almeno circa 4 mesi, almeno circa 3 mesi, almeno circa 2 mesi, almeno circa 1 mese, almeno circa 3 settimane, almeno circa 2 settimane, o almeno circa 1 settimana dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, l'individuo non richiede alcun trattamento di terapia di salvataggio (ad es. iniezione di aflibercept) per almeno

circa 12 mesi dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, l'individuo non richiede alcun trattamento di terapia di salvataggio (ad es. iniezione di aflibercept) per almeno circa 10 mesi dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, l'individuo non richiede alcun trattamento di terapia di salvataggio (ad es. iniezione di aflibercept) per almeno circa 7 mesi dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, l'individuo non richiede alcun trattamento di terapia di salvataggio (ad es. iniezione di aflibercept) per almeno circa 6 mesi dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, l'individuo non richiede alcun trattamento di terapia di salvataggio (ad es. iniezione di aflibercept) per almeno circa 2 mesi dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, l'individuo non richiede alcun trattamento di terapia di salvataggio (ad es. iniezione di aflibercept) per almeno circa 1 mese dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale.

In alcuni casi, una somministrazione di una singola dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che almeno circa il 50% (ad es. qualsiasi tra almeno circa il 50%, almeno circa il 55%, almeno circa il 60%, almeno circa il 65%, almeno circa il 70%, almeno circa il 75%, almeno circa l'80%, almeno circa l'85%, almeno circa il 90%, almeno circa il 95%, almeno circa il 99%, o il 100%) degli individui della pluralità non richiede un trattamento di salvataggio con anti-

VEGF (ad es. iniezione di aflibercept). In alcuni casi, una somministrazione di una singola dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che almeno circa il 67% (ad es. qualsiasi tra almeno circa il 67%, almeno circa il 70%, almeno circa il 75%, almeno circa l'80%, almeno circa l'85%, almeno circa il 90%, almeno circa il 95%, almeno circa il 99%, o il 100%) degli individui della pluralità non richiede un trattamento di salvataggio con anti-VEGF (ad es. iniezione di aflibercept). In alcuni casi, una somministrazione di una singola dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che almeno circa il 50% degli individui della pluralità non richiede un trattamento di salvataggio con anti-VEGF (ad es. iniezione di aflibercept). In alcuni casi, una somministrazione di una singola dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che almeno circa il 78% degli individui della pluralità non richiede un trattamento di salvataggio con anti-VEGF (ad es. iniezione di aflibercept). In alcuni casi, una somministrazione di una singola dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che almeno circa l'80% degli individui della pluralità non richiede un trattamento di salvataggio con anti-VEGF (ad es. iniezione di aflibercept). In alcuni casi, una somministrazione di una singola dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che almeno circa l'82% degli individui della pluralità non richiede un trattamento di salvataggio con anti-VEGF (ad es. iniezione di aflibercept). In alcuni casi, una somministrazione di una singola dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale di una pluralità di

individui dà come risultato che il 100% degli individui della pluralità non richiede un trattamento di salvataggio con anti-VEGF (ad es. iniezione di aflibercept).

In alcuni casi, una somministrazione di una singola dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che almeno circa il 50% (ad es. qualsiasi tra almeno circa il 50%, almeno circa il 55%, almeno circa il 60%, almeno circa il 65%, almeno circa il 70%, almeno circa il 75%, almeno circa l'80%, almeno circa l'85%, almeno circa il 90%, almeno circa il 95%, almeno circa il 99%, o il 100%) degli individui della pluralità non richiede un trattamento di salvataggio con anti-VEGF (ad es. iniezione di aflibercept) per almeno circa 4 settimane dopo una somministrazione delle particelle di rAAV, ad es., qualsiasi tra almeno circa 4 settimane, almeno circa 8 settimane, almeno circa 12 settimane, almeno circa 16 settimane, almeno circa 20 settimane, almeno circa 24 settimane, almeno circa 28 settimane, almeno circa 32 settimane, almeno circa 36 settimane, almeno circa 40 settimane, almeno circa 44 settimane, almeno circa 48 settimane, almeno circa 52 settimane, almeno circa 56 settimane, almeno circa 60 settimane, almeno circa 64 settimane, almeno circa 68 settimane, almeno circa 72 settimane, almeno circa 76 settimane, almeno circa 80 settimane, almeno circa 84 settimane, almeno circa 88 settimane, almeno circa 92 settimane, almeno circa 96 settimane, almeno circa 100 settimane, almeno circa 104 settimane, almeno circa 108 settimane, o più dopo una somministrazione delle particelle di rAAV. In alcuni casi, una somministrazione di una singola dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che almeno circa il 50% degli individui della pluralità non richiede un trattamento di salvataggio con

anti-VEGF (ad es. iniezione di aflibercept) per circa 52 settimane o più, o circa 56 settimane o più, dopo una somministrazione delle particelle di rAAV. In alcuni casi, una somministrazione di una singola dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che almeno circa il 67% (ad es. qualsiasi tra almeno circa il 67%, almeno circa il 70%, almeno circa il 75%, almeno circa l'80%, almeno circa l'85%, almeno circa il 90%, almeno circa il 95%, almeno circa il 99%, o il 100%) degli individui della pluralità non richiede un trattamento di salvataggio con anti-VEGF (ad es. iniezione di aflibercept) per almeno circa 20 settimane dopo una somministrazione delle particelle di rAAV, ad es., qualsiasi tra almeno circa 20 settimane, almeno circa 24 settimane, almeno circa 28 settimane, almeno circa 32 settimane, almeno circa 36 settimane, almeno circa 40 settimane, almeno circa 44 settimane, almeno circa 48 settimane, almeno circa 52 settimane, almeno circa 56 settimane, almeno circa 60 settimane, almeno circa 64 settimane, almeno circa 66 settimane, o più dopo una somministrazione delle particelle di rAAV. In alcuni casi, una somministrazione di una singola dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che almeno circa il 78% degli individui della pluralità non richiede un trattamento di salvataggio con anti-VEGF (ad es. iniezione di aflibercept) per almeno circa 4 settimane dopo una somministrazione delle particelle di rAAV, ad es. qualsiasi tra almeno circa 4 settimane, almeno circa 8 settimane, almeno circa 12 settimane, almeno circa 16 settimane, almeno circa 20 settimane, almeno circa 24 settimane, almeno circa 28 settimane, almeno circa 32 settimane, almeno circa 36 settimane, almeno circa 40 settimane, almeno circa 44 settimane, almeno circa 48

settimane, almeno circa 52 settimane, almeno circa 56 settimane, almeno circa 60 settimane, almeno circa 64 settimane, almeno circa 68 settimane, almeno circa 72 settimane, almeno circa 76 settimane, almeno circa 80 settimane, almeno circa 84 settimane, almeno circa 88 settimane, almeno circa 92 settimane, almeno circa 96 settimane, almeno circa 100 settimane, almeno circa 104 settimane, almeno circa 108 settimane, o più, dopo una somministrazione delle particelle di rAAV. In alcuni casi, una somministrazione di una singola dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che almeno circa il 78% degli individui della pluralità non richiede un trattamento di salvataggio con anti-VEGF (ad es. iniezione di aflibercept) per circa 20 settimane o più, o circa 36 settimane o più, dopo una somministrazione delle particelle di rAAV. In alcuni casi, una somministrazione di una singola dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che almeno circa l'80% degli individui della pluralità non richiede un trattamento di salvataggio con anti-VEGF (ad es. iniezione di aflibercept) per almeno circa 20 settimane dopo una somministrazione delle particelle di rAAV, ad es. qualsiasi tra almeno circa 20 settimane, almeno circa 24 settimane, almeno circa 28 settimane, almeno circa 32 settimane, almeno circa 36 settimane, almeno circa 40 settimane, almeno circa 44 settimane, almeno circa 48 settimane, almeno circa 52 settimane, almeno circa 56 settimane, almeno circa 60 settimane, almeno circa 64 settimane, almeno circa 66 settimane, o più dopo una somministrazione delle particelle di rAAV. In alcuni casi, una somministrazione di una singola dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che

almeno circa l'82% degli individui della pluralità non richiede un trattamento di salvataggio con anti-VEGF (ad es. iniezione di aflibercept) per almeno circa 20 settimane dopo una somministrazione delle particelle di rAAV, ad es. qualsiasi tra almeno circa 20 settimane, almeno circa 24 settimane, almeno circa 28 settimane, almeno circa 32 settimane, almeno circa 36 settimane, almeno circa 40 settimane, almeno circa 44 settimane, almeno circa 48 settimane, almeno circa 52 settimane, almeno circa 56 settimane, almeno circa 60 settimane, almeno circa 64 settimane, almeno circa 66 settimane, o più, dopo una somministrazione delle particelle di rAAV. In alcuni casi, una somministrazione di una singola dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che il 100% degli individui della pluralità non richiede un trattamento di salvataggio con anti-VEGF (ad es. iniezione di aflibercept) per almeno circa 20 settimane dopo una somministrazione delle particelle di rAAV, ad es. qualsiasi tra almeno circa 20 settimane, almeno circa 24 settimane, almeno circa 28 settimane, almeno circa 32 settimane, almeno circa 36 settimane, almeno circa 40 settimane, almeno circa 44 settimane, almeno circa 48 settimane, almeno circa 52 settimane, almeno circa 56 settimane, almeno circa 60 settimane, almeno circa 64 settimane, almeno circa 66 settimane, o più, dopo una somministrazione delle particelle di rAAV. In alcuni casi, una somministrazione di una singola dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che il 100% degli individui della pluralità non richiede un trattamento di salvataggio con anti-VEGF (ad es. iniezione di aflibercept) per almeno circa 4 settimane dopo una somministrazione delle particelle di rAAV, ad es., qualsiasi tra almeno circa 4 settimane, almeno circa 8

settimane, almeno circa 12 settimane, almeno circa 16 settimane, almeno circa 20 settimane, almeno circa 24 settimane, almeno circa 28 settimane, almeno circa 32 settimane, almeno circa 36 settimane, almeno circa 40 settimane, almeno circa 44 settimane, almeno circa 48 settimane, almeno circa 52 settimane, almeno circa 56 settimane, almeno circa 60 settimane, almeno circa 64 settimane, almeno circa 68 settimane, almeno circa 72 settimane, almeno circa 76 settimane, almeno circa 80 settimane, almeno circa 84 settimane, almeno circa 88 settimane, almeno circa 92 settimane, almeno circa 96 settimane, almeno circa 100 settimane, almeno circa 104 settimane, almeno circa 108 settimane, o più dopo una somministrazione delle particelle di rAAV. In alcuni casi, una somministrazione di una singola dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che il 100% degli individui della pluralità non richiede un trattamento di salvataggio con anti-VEGF (ad es. iniezione di aflibercept) per qualsiasi tra circa 64 settimane o più, 72 settimane o più, o 84 settimane o più, dopo una somministrazione delle particelle di rAAV.

In alcuni casi, una somministrazione di una dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che circa il 78% o meno (ad es. qualsiasi tra circa il 78% o meno, circa il 75% o meno, circa il 70% o meno, circa il 65% o meno, circa il 60% o meno, circa il 55% o meno, circa il 50% o meno, circa il 45% o meno, circa il 40% o meno, circa il 35% o meno, circa il 30% o meno, circa il 25% o meno, circa il 20% o meno, circa il 15% o meno, circa il 10% o meno, circa il 5% o meno, circa il 2,5% o meno, circa l'1% o meno, o circa lo 0,5% o meno) degli individui della pluralità richiede qualsiasi trattamento di salvataggio (ad es.

iniezione di aflibercept) nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, una somministrazione di una dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che circa il 50% o meno (ad es. qualsiasi tra circa il 50% o meno, circa il 45% o meno, circa il 40% o meno, circa il 35% o meno, circa il 30% o meno, circa il 25% o meno, circa il 20% o meno, circa il 15% o meno, circa il 10% o meno, circa il 5% o meno, circa il 2,5% o meno, circa l'1% o meno, o circa lo 0,5% o meno) degli individui della pluralità richiede qualsiasi trattamento di salvataggio (ad es. iniezione di aflibercept) nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, una somministrazione di una dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che meno di circa il 30% (ad es. meno di qualsiasi tra circa il 30%, circa il 25%, circa il 20%, circa il 15%, circa il 10%, circa il 5%, circa il 2,5%, circa l'1%, o circa lo 0,5%) degli individui della pluralità richiede qualsiasi trattamento di salvataggio (ad es. iniezione di aflibercept) nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, una somministrazione di una dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che meno di circa il 30% degli individui della pluralità richiede qualsiasi trattamento di salvataggio (ad es. iniezione di aflibercept) nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, una somministrazione di una dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che meno di circa il 20% degli individui della pluralità richiede qualsiasi trattamento di salvataggio (ad es. iniezione di aflibercept) nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, una somministrazione di una dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o

nell'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che lo 0% degli individui della pluralità richiede qualsiasi trattamento di salvataggio (ad es. iniezione di aflibercept) nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale.

In alcuni casi, una somministrazione di una dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che circa il 78% o meno (ad es. qualsiasi tra circa il 78% o meno, circa il 75% o meno, circa il 70% o meno, circa il 65% o meno, circa il 60% o meno, circa il 55% o meno, circa il 50% o meno, circa il 45% o meno, circa il 40% o meno, circa il 35% o meno, circa il 30% o meno, circa il 25% o meno, circa il 20% o meno, circa il 15% o meno, circa il 10% o meno, circa il 5% o meno, circa il 2,5% o meno, circa l'1% o meno, o circa lo 0,5% o meno) degli individui della pluralità richiede qualsiasi trattamento di salvataggio (ad es. iniezione di aflibercept) per almeno circa 4 settimane dopo una somministrazione delle particelle di rAAV, ad es., qualsiasi tra almeno circa 4 settimane, almeno circa 8 settimane, almeno circa 12 settimane, almeno circa 16 settimane, almeno circa 20 settimane, almeno circa 24 settimane, almeno circa 28 settimane, almeno circa 32 settimane, almeno circa 36 settimane, almeno circa 40 settimane, almeno circa 44 settimane, almeno circa 48 settimane, almeno circa 52 settimane, almeno circa 56 settimane, almeno circa 60 settimane, almeno circa 64 settimane, almeno circa 68 settimane, almeno circa 72 settimane, almeno circa 76 settimane, almeno circa 80 settimane, almeno circa 84 settimane, almeno circa 88 settimane, almeno circa 92 settimane, almeno circa 96 settimane, almeno circa 100 settimane, almeno circa 104 settimane, almeno circa 108 settimane, o più, dopo una somministrazione delle particelle di rAAV. In alcuni casi, una somministrazione

di una dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che meno di circa il 30% (ad es. meno di qualsiasi tra circa il 30%, circa il 25%, circa il 20%, circa il 15%, circa il 10%, circa il 5%, circa il 2,5%, circa l'1%, o circa lo 0,5%) degli individui della pluralità richiede qualsiasi trattamento di salvataggio (ad es. iniezione di aflibercept) per almeno circa 20 settimane dopo una somministrazione delle particelle di rAAV, ad es., qualsiasi tra almeno circa 20 settimane, almeno circa 24 settimane, almeno circa 28 settimane, almeno circa 32 settimane, almeno circa 36 settimane, almeno circa 40 settimane, almeno circa 44 settimane, almeno circa 48 settimane, almeno circa 52 settimane, almeno circa 56 settimane, almeno circa 60 settimane, almeno circa 64 settimane, almeno circa 66 settimane, o più, dopo una somministrazione delle particelle di rAAV. In alcuni casi, una somministrazione di una dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che meno di circa il 30% degli individui della pluralità richiede qualsiasi trattamento di salvataggio (ad es. iniezione di aflibercept) nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale per almeno circa 20 settimane dopo una somministrazione delle particelle di rAAV, ad es. qualsiasi tra almeno circa 20 settimane, almeno circa 24 settimane, almeno circa 28 settimane, almeno circa 32 settimane, almeno circa 36 settimane, almeno circa 40 settimane, almeno circa 44 settimane, almeno circa 48 settimane, almeno circa 52 settimane, almeno circa 56 settimane, almeno circa 60 settimane, almeno circa 64 settimane, almeno circa 66 settimane, o più, dopo una somministrazione delle particelle di rAAV. In alcuni casi, una somministrazione di una dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale di una

pluralità di individui dà come risultato che meno di circa il 20% degli individui della pluralità richiede qualsiasi trattamento di salvataggio (ad es. iniezione di aflibercept) nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale per almeno circa 20 settimane dopo una somministrazione delle particelle di rAAV, ad es. qualsiasi tra almeno circa 20 settimane, almeno circa 24 settimane, almeno circa 28 settimane, almeno circa 32 settimane, almeno circa 36 settimane, almeno circa 40 settimane, almeno circa 44 settimane, almeno circa 48 settimane, almeno circa 52 settimane, almeno circa 56 settimane, almeno circa 60 settimane, almeno circa 64 settimane, almeno circa 66 settimane, o più dopo una somministrazione delle particelle di rAAV. In alcuni casi, una somministrazione di una dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che lo 0% degli individui della pluralità richiede qualsiasi trattamento di salvataggio (ad es. iniezione di aflibercept) nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale per almeno circa 20 settimane dopo una somministrazione delle particelle di rAAV, ad es. qualsiasi tra almeno circa 20 settimane, almeno circa 24 settimane, almeno circa 28 settimane, almeno circa 32 settimane, almeno circa 36 settimane, almeno circa 40 settimane, almeno circa 44 settimane, almeno circa 48 settimane, almeno circa 52 settimane, almeno circa 56 settimane, almeno circa 60 settimane, almeno circa 64 settimane, almeno circa 66 settimane, o più dopo una somministrazione delle particelle di rAAV. In alcuni casi, una somministrazione di una dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato che lo 0% degli individui della pluralità richiede qualsiasi trattamento di salvataggio (ad es. iniezione di aflibercept) nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale per almeno

circa 4 settimane dopo una somministrazione delle particelle di rAAV, ad es. qualsiasi tra almeno circa 4 settimane, almeno circa 8 settimane, almeno circa 12 settimane, almeno circa 16 settimane, almeno circa 20 settimane, almeno circa 24 settimane, almeno circa 28 settimane, almeno circa 32 settimane, almeno circa 36 settimane, almeno circa 40 settimane, almeno circa 44 settimane, almeno circa 48 settimane, almeno circa 52 settimane, almeno circa 56 settimane, almeno circa 60 settimane, almeno circa 64 settimane, almeno circa 68 settimane, almeno circa 72 settimane, almeno circa 76 settimane, almeno circa 80 settimane, almeno circa 84 settimane, almeno circa 88 settimane, almeno circa 92 settimane, almeno circa 96 settimane, almeno circa 100 settimane, almeno circa 104 settimane, almeno circa 108 settimane, o più, dopo una somministrazione delle particelle di rAAV.

In alcuni casi, una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato una riduzione del tasso di iniezione di anti-VEGF annualizzato medio aritmetico di qualsiasi tra almeno circa l'80%, almeno circa l'85%, almeno circa l'87%, almeno circa il 90%, almeno circa il 95%, almeno circa il 99%, o il 100%, in confronto al tasso di iniezione di anti-VEGF annualizzato medio aritmetico precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato una riduzione del tasso di iniezione di anti-VEGF annualizzato medio aritmetico di circa l'87% o più in confronto al tasso di iniezione di anti-VEGF annualizzato medio aritmetico precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, una somministrazione della

dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale di una pluralità di individui dà come risultato una riduzione del tasso di iniezione di anti-VEGF annualizzato medio aritmetico del 100% in confronto al tasso di iniezione di anti-VEGF annualizzato medio aritmetico antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV.

In alcuni casi, il tasso di iniezione di anti-VEGF annualizzato medio aritmetico antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV è calcolato secondo la formula:

Tasso annualizzato antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV = (numero di iniezioni di anti-VEGF nei 12 mesi antecedenti la somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV)/(giorni dalla prima iniezione di anti-VEGF negli ultimi 12 mesi antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV alla somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV/365,25)

In alcuni casi, il tasso di iniezione di anti-VEGF annualizzato medio aritmetico dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV è calcolato secondo la formula:

Tasso annualizzato dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV = (numero di iniezioni di anti-VEGF dalla somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV)/(giorni dalla somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV/365,25).

In alcuni casi, è determinato che un individuo richiede un trattamento di salvataggio (ad es. iniezione intravitreale di anti-VEGF, come iniezione di aflibercept) dopo una somministrazione delle particelle di rAAV se l'individuo

esibisce perdita di 10 o più lettere nella BCVA (ad es. usando il protocollo ETDRS) nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale in cui sono state somministrate le particelle di rAAV che è attribuibile a fluido intraretinico o sottoretinico (ad es. come determinato mediante SD-OCT) in confronto alla BCVA nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale in cui sono state somministrate le particelle di rAAV precedentemente a una somministrazione delle particelle di rAAV. In alcuni casi, è determinato che un individuo richiede un trattamento di salvataggio (ad es. iniezione intravitreale di anti-VEGF, come iniezione di aflibercept) dopo una somministrazione delle particelle di rAAV se l'individuo esibisce un aumento di spessore del sottocampo centrale (ad es. CST o CRT) maggiore di 75 µm nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale in cui sono state somministrate le particelle di rAAV in confronto allo spessore del sottocampo centrale nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale in cui sono state somministrate le particelle di rAAV precedentemente a una somministrazione delle particelle di rAAV, ad es. come determinato mediante SD-OCT. In alcuni casi, è determinato che un individuo richiede un trattamento di salvataggio (ad es. iniezione intravitreale di anti-VEGF, come iniezione di aflibercept) dopo una somministrazione delle particelle di rAAV se l'individuo esibisce emorragia che minaccia la vista dovuta a DMLE nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale in cui sono state somministrate le particelle di rAAV.

In alcuni casi, un trattamento di salvataggio comprende una somministrazione di una terapia con anti-VEGF standard di cura. Tale terapia con anti-VEGF standard di cura comprende uno o più trattamenti con anti-VEGF (ad es. iniezioni intravitreali di anti-VEGF). In alcuni casi, un trattamento di salvataggio comprende una o più iniezioni IVT di aflibercept. In alcuni casi,

un trattamento di salvataggio comprende una o più iniezioni di IVT di aflibercept comprendenti circa 2 mg di aflibercept.

In alcuni casi, un trattamento di una malattia neovascolare oculare in un individuo dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale è accertato in base al livello di fluido retinico in confronto al livello di fluido retinico precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, un trattamento di una malattia neovascolare oculare in un individuo dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale è determinato se è osservata una riduzione di fluido retinico dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale in confronto al livello di fluido retinico precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, la malattia neovascolare oculare è wAMD.

In alcuni casi, un trattamento di una malattia neovascolare oculare in un individuo dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale è accertato in base alla risoluzione del distacco dell'epitelio pigmentato (PED) in confronto al PED precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, un trattamento di una malattia neovascolare oculare in un individuo dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale è determinato se è osservata una risoluzione del PED dopo una

somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale, in confronto al PED antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, la malattia neovascolare oculare è wAMD.

In alcuni casi, un trattamento di una malattia neovascolare oculare in un individuo dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale è accertato in base alla crescita della lesione da neovascolarizzazione coroideale (CNV), come determinato mediante angiografia con fluoresceina. In alcuni casi, un trattamento di una malattia neovascolare oculare in un individuo dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale è determinato se le lesioni CNV si restringono (ad es. di più di qualsiasi tra circa il 5%, circa il 10%, circa il 20%, circa il 30%, circa il 40%, circa il 50%, circa il 60%, circa il 70%, circa l'80%, o il 100%) dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale in confronto a lesioni CNV presenti antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, un trattamento di una malattia neovascolare oculare in un individuo dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale è determinato se le lesioni CNV non crescono (ad es. crescono meno di qualsiasi tra circa l'1%, circa il 2%, circa il 3%, circa il 4%, circa il 5%, circa il 6%, circa il 7%, circa l'8%, circa il 9%, circa il 10%, circa il 15%, o circa il 20%) dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale in confronto a lesioni CNV presenti antecedentemente a una somministrazione della dose

unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, la malattia neovascolare oculare è wAMD.

In alcuni casi, un trattamento di una malattia neovascolare oculare in un individuo dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale è accertato sulla base delle peculiarità anatomiche dell'occhio e/o dell'occhio controlaterale in base a qualsiasi metodo noto nell'arte (ad es. SD-OCT, OCT, angiografia con fluoresceina, fotografia digitale a colori del fundus, ecc.). In alcuni casi, un trattamento di una malattia neovascolare oculare in un individuo dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale è determinato se è osservato un miglioramento delle peculiarità anatomiche dell'occhio e/o dell'occhio controlaterale dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, la malattia neovascolare oculare è wAMD.

In alcuni casi, un trattamento di una malattia neovascolare oculare in un individuo dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale è accertato sulla base di esame oftalmologico, pressione intraoculare (ad es. usando un tonometro ad appianazione di Goldmann o Tono-pen), oftalmoscopia indiretta, esame dell'occhio e/o dell'occhio controlaterale e degli annessi, responsività della palpebra e/o della pupilla, blefaroptosi, sagoma anomala della pupilla, pupille disuguali, reazione anomala alla luce, difetti afferenti della pupilla, esame con lampada a fessura (incluso di palpebre, congiuntiva, cornea, cristallino, iride e camera anteriore), anomalie del segmento posteriore del vitreo, nervo ottico, retina periferica e vascolarizzazione retinica, SD-OCT, angiografia con

fluoresceina, fotografia digitale a colori del fundus (incluse immagini della retina, del disco ottico e/o della macula), campionamento dell'umor acqueo, campionamento dell'umor vitreo, OCT-angiografia (OCT-A), rifrazione e/o acuità visiva (BCVA). In alcuni casi, l'SD-OCT è svolta per valutare lo spessore retinico (ad es. spessore retinico centrale o spessore del sottocampo centrale), volume maculare e/o la presenza di fluido (ad es. fluido sottoretinico o fluido intraretinico). In alcuni casi, la malattia neovascolare oculare è wAMD.

La dose unitaria di particelle di rAAV può essere somministrata all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo mediante qualsiasi metodo noto nell'arte. Per esempio, la dose unitaria di particelle di rAAV può essere somministrata all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo per via intraoculare o mediante iniezione intravitreale. In alcuni casi, la somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo è intraoculare. In alcuni casi, la somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo è mediante iniezione intravitreale (IVT) o iniezione sottoretinica. In alcuni casi, la somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo è mediante iniezione IVT. In alcuni casi, è impiegata una tecnica asettica per somministrare una dose unitaria di particelle di rAAV mediante iniezione intravitreale. In alcuni casi, è impiegata una tecnica asettica con povidone-iodio per somministrare una dose unitaria di particelle di rAAV mediante iniezione intravitreale.

In alcuni casi, l'individuo non ha ricevuto un trattamento antecedente per una malattia neovascolare oculare. In alcuni casi, l'individuo non ha ricevuto

un trattamento antecedente nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale per una malattia neovascolare oculare. In alcuni casi, l'individuo non ha ricevuto un trattamento antecedente con un agente anti-VEGF (ad es. bevacizumab, brolocizumab, ranibizumab, faricimab, abicipar pegol, conbercept, OPT-302, KSI-301, sunitinib maleato iniettabile (GB-102), PAN-90806 (PanOptica), e/o aflibercept). In alcuni casi, l'individuo non ha ricevuto un trattamento antecedente con un agente anti-VEGF (ad es. bevacizumab, brolocizumab, ranibizumab, faricimab, abicipar pegol, conbercept, OPT-302, KSI-301, sunitinib maleato iniettabile (GB-102), PAN-90806 (PanOptica), e/o aflibercept) nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, l'individuo non ha ricevuto un trattamento antecedente con aflibercept. In alcuni casi, l'individuo non ha ricevuto un trattamento antecedente con aflibercept nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale.

Trattamenti con steroide

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è somministrata in combinazione con trattamento con steroide. In alcuni casi, il trattamento con steroide è un trattamento con corticosteroide. Corticosteroidi esemplificativi includono, senza limitazione, aclometasone, amcinomide, beclometasone, betametasona, budesonide, ciclesonide, clobetasolo, clobetasone, clocortolone, cloprednolo, cortivazolo, deflazacort, deossicorticosterone, desonide, desossimetasona, desametasona, diflorasone, diflucortolone, difluprednato, fluclorolone, fludrocortisone, fludrossicortide, flumetasone, flunisolide, fluocinolone acetone, fluocinonide, fluocortin, fluocortolone, fluorometolone, fluperolone, fluticasone, fuprednidene, formocortale, alcinonide, alometasone, idrocortisone aceponato, idrocortisone buteprato, idrocortisone butirrato,

loteprednolo, medrisone, meprednisone, metilprednisolone, metilprednisolone aceponato, mometasone furoato, parametasone, prednicarbato, prednisone, prednisolone, prednilidene, rimexolone, tixocortolo, triamcinolone, e ulobetasolo. In alcuni casi, il trattamento con steroide è un trattamento con steroide sistemico. In alcuni casi, il trattamento con steroide è un trattamento con steroide orale. In alcuni casi, il trattamento con steroide è un trattamento con steroide oftalmico. In alcuni casi, il trattamento con steroide oftalmico è un trattamento con steroide topico (ad es. una goccia), un trattamento con steroide perioculare (ad es. sottotenoniano, sottocongiuntivale), un trattamento con steroide intravitreale, o un trattamento con steroide sovracoroideale. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico è un trattamento con difluprednato, un trattamento con medrisone, un trattamento con loteprednolo, un trattamento con prednisolone, un trattamento con fluocinolone, un trattamento con triamcinolone, un trattamento con rimexolone, un trattamento con desametasone, un trattamento con fluorometolone, un trattamento con fluocinolone, un trattamento con rimexolone, o un trattamento con prednisone. In alcuni casi, il trattamento con steroide oftalmico è un trattamento con difluprednato. In alcuni casi, il trattamento con steroide è un trattamento con prednisone. In alcuni casi, il trattamento con steroide è un trattamento con difluprednato.

In alcuni casi, il trattamento con steroide comprende un trattamento con steroide sistemico e un trattamento con steroide topico. In alcuni casi, il trattamento con steroide sistemico è un trattamento con steroide orale. In alcuni casi, il trattamento con steroide sistemico è un trattamento con prednisone. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico è un trattamento con

difluprednato. In alcuni casi, il trattamento con steroide sistemico e il trattamento con steroide topico sono somministrati simultaneamente (ad es. lo stesso giorno). In alcuni casi, il trattamento con steroide sistemico e il trattamento con steroide topico sono somministrati separatamente (ad es. in giorni differenti).

In alcuni casi, lo steroide è somministrato prima, durante e/o dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, lo steroide è somministrato prima, durante e dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, lo steroide è somministrato durante e dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, lo steroide è somministrato prima di una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, lo steroide è somministrato durante una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, lo steroide è somministrato prima e durante una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, lo steroide è somministrato dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, lo steroide è somministrato durante e dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, lo steroide è somministrato prima e/o dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, lo steroide è somministrato prima e dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV.

In alcuni casi, il trattamento con steroide è un trattamento con steroide sistemico. In alcuni casi, il trattamento con steroide sistemico è un trattamento con steroide orale.

In alcuni casi, il trattamento con steroide è un trattamento con prednisone orale. In alcuni casi, il trattamento con prednisone orale è avviato antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, un trattamento con prednisone orale iniziale è somministrato a una dose di qualsiasi tra circa 40 mg, circa 45 mg, circa 50 mg, circa 55 mg, circa 60 mg, circa 65 mg, o circa 70 mg di prednisone al giorno in qualsiasi tra circa 7 giorni, circa 6 giorni, circa 5 giorni, circa 4 giorni, circa 3 giorni, circa 2 giorni, circa 1 giorno, o 0 giorni prima di una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV, ed è continuato per qualsiasi tra circa 3 giorni, circa 4 giorni, circa 5 giorni, circa 6 giorni, circa 7 giorni, circa 8 giorni, circa 9 giorni, o circa 10 giorni, o più. In alcuni casi, un trattamento con prednisone orale iniziale è somministrato a una dose di circa 60 mg di prednisone al giorno circa 3 giorni prima di una somministrazione della dose unitaria di rAAV, ed è continuato per circa 3 giorni.

In alcuni casi, il trattamento con prednisone orale iniziale è seguito da una riduzione progressiva della dose di trattamento con prednisone orale. In alcuni casi, la riduzione progressiva della dose di trattamento orale con prednisone è somministrata a una dose di qualsiasi tra circa 20 mg, circa 25 mg, circa 30 mg, circa 35 mg, circa 40 mg, circa 45 mg o circa 50 mg di prednisone al giorno per un totale di qualsiasi tra circa 1 giorno, circa 2 giorni, circa 3 giorni, circa 4 giorni, circa 5 giorni, circa 6 giorni o circa 7 giorni, seguita da una dose di circa 10 mg, circa 15 mg, circa 20 mg o circa 25 mg di prednisone al giorno per qualsiasi tra circa 1 giorno, circa 2 giorni, circa 3 giorni o circa 4 giorni, seguita da una dose di circa 5 mg, circa 10 mg o circa 15 mg di prednisone al giorno per circa 1 giorno, circa 2 giorni, circa 3 giorni o circa 4

giorni. In alcuni casi, la riduzione progressiva della dose di prednisone è somministrata a una dose di circa 40 mg di prednisone al giorno per 3 giorni, seguita da una dose di circa 20 mg di prednisone al giorno per 2 giorni, seguita da una dose di circa 10 mg di prednisone al giorno per 2 giorni.

In alcuni casi, un trattamento con prednisone orale iniziale è avviato 3 giorni prima di una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV a una dose di 60 mg di prednisone al giorno per un totale di 6 giorni, seguita da una dose di 40 mg di prednisone al giorno per un totale di 3 giorni, seguita da una dose di 20 mg di prednisone al giorno per 2 giorni, seguita da una dose di 10 mg di prednisone al giorno per 2 giorni.

In alcuni casi, il trattamento con steroide è un trattamento con steroide oftalmico. In alcuni casi, il trattamento con steroide oftalmico è un trattamento con difluprednato. In alcuni casi, il trattamento con steroide è somministrato prima, durante, e/o dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il trattamento con steroide è somministrato prima di una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il trattamento con steroide è somministrato durante una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il trattamento con steroide è somministrato dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il trattamento con steroide è somministrato prima e durante una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il trattamento con steroide è somministrato prima e dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il trattamento con steroide è somministrato durante e dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il trattamento con steroide è

somministrato prima, durante e dopo la somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV.

In alcuni casi, il trattamento con steroide è un trattamento con steroide oftalmico, ad es. un trattamento con steroide topico. In alcuni casi, il trattamento con steroide oftalmico, ad es. un trattamento con steroide topico, è un trattamento giornaliero con steroide per fino a 4 settimane, fino a 6 settimane, fino a 8 settimane, fino a 3 mesi, fino a 4 mesi, fino a 5 mesi, o fino a 6 mesi dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico comprende circa quattro somministrazioni di steroide topico circa alla settimana 1, circa tre somministrazioni di steroide topico circa alla settimana 2, circa due somministrazioni di steroide topico circa alla settimana 3, e circa una somministrazione di steroide topico circa alla settimana 4; la tempistica iniziando con e seguente una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico comprende circa quattro somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, QID) per circa 3 settimane dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV, seguite da circa 3 somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, TID) per circa 1 settimana, seguite da circa 2 somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, BID) per circa 1 settimana, e seguite da circa 1 somministrazione di steroide topico al giorno (*cioè*, QD) per circa 1 settimana. In alcuni casi, il trattamento con steroide oftalmico è esteso a discrezione del medico curante.

In alcuni casi, lo steroide oftalmico è da circa lo 0,005% a circa lo 0,5% di difluprednato. In alcuni casi, lo steroide oftalmico è qualsiasi tra circa lo 0,005%, circa lo 0,006%, circa lo 0,007%, circa lo 0,008%, circa lo 0,009%,

circa lo 0,01%, circa lo 0,02%, circa lo 0,03%, circa lo 0,4%, circa lo 0,05%, circa lo 0,06%, circa lo 0,07%, circa lo 0,08%, circa lo 0,09%, o circa lo 0,1% di difluprednato. In alcuni casi, lo steroide oftalmico è difluprednato allo 0,05%. In alcuni casi, una dose di difluprednato allo 0,05% è una goccia di soluzione oftalmica. In alcuni casi, una goccia è circa 50 µl (ad es. da circa 25 µl a circa 50 µl, o da circa 50 µl a circa 100 µl). In alcuni casi, una dose di difluprednato comprende da circa 1 µg a circa 5 µg, o da circa 2 µg a circa 3 µg, o circa 2,5 µg di difluprednato. In alcuni casi, una dose di difluprednato comprende circa 2,5 µg di difluprednato.

In alcuni casi, il trattamento con steroide topico comprende un trattamento con steroide topico di 7 settimane, ad es. difluprednato allo 0,05%. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico comprende circa quattro somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, QID) per circa quattro settimane, seguite da circa tre somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, TID) per circa una settimana, seguite da circa due somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, BID) per circa una settimana, e seguite da circa una somministrazione di steroide topico al giorno (*cioè*, QD) per circa una settimana; la tempistica iniziando circa una settimana antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico comprende circa quattro somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, QID) per circa 28 giorni, seguite da circa tre somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, TID) per circa 7 giorni, seguite da circa due somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, BID) per circa 7 giorni e seguite da circa una somministrazione di steroide topico al giorno (*cioè*, QD) per circa 7 giorni; la tempistica iniziando circa 7 giorni

antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico comprende circa quattro somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, QID) dal Giorno 1 a circa il Giorno 28, seguite da circa tre somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, TID) da circa il Giorno 29 a circa il Giorno 35, seguite da circa due somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, BID) da circa il Giorno 36 a circa il Giorno 42, e seguite da circa una somministrazione di steroide topico al giorno (*cioè*, QD) da circa il Giorno 43 a circa il Giorno 49; la tempistica iniziando il Giorno 1. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico è continuato se è presente infiammazione.

In alcuni casi, i metodi di trattamento descritti nel presente contesto comprendono somministrare un agente anti-VEGF (ad es. un'iniezione IVT di aflibercept) a un occhio dell'individuo antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio dell'individuo. In alcuni casi, l'agente anti-VEGF è somministrato circa 7 giorni o circa 1 settimana antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'agente anti-VEGF è somministrato circa il Giorno 1 e la dose unitaria di particelle di rAAV è somministrata circa il Giorno 8. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico comprende un trattamento con steroide topico di 7 settimane, ad es. difluprednato allo 0,05%. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico comprende circa quattro somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, QID) per circa quattro settimane, seguite da circa tre somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, TID) per circa una settimana, seguite da circa due somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, BID) per circa una settimana, e seguite da circa

una somministrazione di steroide topico al giorno (*cioè*, QD) per circa una settimana; la tempistica iniziando con e seguente una somministrazione dell'agente anti-VEGF. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico comprende circa quattro somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, QID) per circa 28 giorni, seguite da circa tre somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, TID) per circa 7 giorni, seguite da circa due somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, BID) per circa 7 giorni e seguite da circa una somministrazione di steroide topico al giorno (*cioè*, QD) per circa 7 giorni; la tempistica iniziando con e seguente una somministrazione dell'agente anti-VEGF. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico comprende circa quattro somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, QID) dal Giorno 1 a circa il Giorno 28, seguite da circa tre somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, TID) da circa il Giorno 29 a circa il Giorno 35, seguite da circa due somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, BID) da circa il Giorno 36 a circa il Giorno 42, e seguite da circa una somministrazione di steroide topico al giorno (*cioè*, QD) da circa il Giorno 43 a circa il Giorno 49; la tempistica iniziando il Giorno 1. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico è continuato se è presente infiammazione.

In alcuni casi, il trattamento con steroide topico comprende un trattamento con steroide topico di 4 mesi, ad es. difluprednato allo 0,05%. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico comprende circa quattro somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, QID) per circa un mese, seguite da circa tre somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, TID) per circa un mese, seguite da circa due somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, BID) per circa un mese, e seguite da circa una somministrazione di

steroidi topici al giorno (*cioè*, QD) per circa un mese; la tempistica iniziando circa una settimana antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il trattamento con steroidi topici comprende circa quattro somministrazioni di steroidi topici al giorno (*cioè*, QID) per circa 30 giorni, seguite da circa tre somministrazioni di steroidi topici al giorno (*cioè*, TID) per circa 30 giorni, seguite da circa due somministrazioni di steroidi topici al giorno (*cioè*, BID) per circa 30 giorni, e seguite da circa una somministrazione di steroidi topici al giorno (*cioè*, QD) per circa 30 giorni; la tempistica iniziando circa 7 giorni antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il trattamento con steroidi topici comprende circa quattro somministrazioni di steroidi topici al giorno (*cioè*, QID) dal Giorno 1 a circa il Giorno 30, seguite da circa tre somministrazioni di steroidi topici al giorno (*cioè*, TID) da circa il Giorno 31 a circa il Giorno 60, seguite da circa due somministrazioni di steroidi topici al giorno (*cioè*, BID) da circa il Giorno 61 a circa il Giorno 90, e seguite da circa una somministrazione di steroidi topici al giorno (*cioè*, QD) da circa il Giorno 91 a circa il Giorno 120; la tempistica iniziando il Giorno 1. In alcuni casi, il trattamento con steroidi topici è continuato se è presente infiammazione.

In alcuni casi, i metodi di trattamento descritti nel presente contesto comprendono somministrare un agente anti-VEGF (ad es. un'iniezione IVT di aflibercept) a un occhio dell'individuo antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio dell'individuo. In alcuni casi, l'agente anti-VEGF è somministrato circa 7 giorni o circa 1 settimana antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'agente anti-VEGF è somministrato circa il

Giorno 1 e la dose unitaria di particelle di rAAV è somministrata circa il Giorno 8. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico comprende un trattamento con steroide topico di 4 mesi, ad es. difluprednato allo 0,05%. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico comprende circa quattro somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, QID) per circa un mese, seguite da circa tre somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, TID) per circa un mese, seguite da circa due somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, BID) per circa un mese, e seguite da circa una somministrazione di steroide topico al giorno (*cioè*, QD) per circa un mese; la tempistica iniziando con e seguente una somministrazione dell'agente anti-VEGF. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico comprende circa quattro somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, QID) per circa 30 giorni, seguite da circa tre somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, TID) per circa 30 giorni, seguite da circa due somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, BID) per circa 30 giorni, e seguite da circa una somministrazione di steroide topico al giorno (*cioè*, QD) per circa 30 giorni; la tempistica iniziando con e seguente una somministrazione dell'agente anti-VEGF. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico comprende circa quattro somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, QID) dal Giorno 1 a circa il Giorno 30, seguite da circa tre somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, TID) da circa il Giorno 31 a circa il Giorno 60, seguite da circa due somministrazioni di steroide topico al giorno (*cioè*, BID) da circa il Giorno 61 a circa il Giorno 90, e seguite da circa una somministrazione di steroide topico al giorno (*cioè*, QD) da circa il Giorno 91 a circa il Giorno 120; la tempistica iniziando il Giorno 1. In alcuni casi, il trattamento con steroide topico è continuato se è presente infiammazione.

Vettori per erogare transgeni a cellule bersaglio

In alcuni casi, le particelle di virus adeno-associato ricombinante (rAAV) comprendono un vettore virale ricombinante derivato da virus adeno-associato (AAV) che è stato alterato in modo tale da essere difettivo per replicazione nel soggetto (ad es. un essere umano o un primate non umano). In alcuni casi, il virus adeno-associato (AAV) è un virus adeno-associato ricombinante (rAAV).

Gli AAV o rAAV sono piccoli virus a DNA a singolo filamento non con involucro. Gli rAAV sono parvovirus umani non patogeni e possono essere resi dipendenti dai virus helper, inclusi adenovirus, virus dell'herpes simplex, vaccinia virus e CMV, per la replicazione.

L'esposizione ad AAV di tipo selvatico (wt, wild-type) non è associata né è nota provocare alcuna patologia umana ed è comune nella popolazione generale, rendendo AAV o rAAV un sistema di erogazione idoneo per terapia genica. AAV e rAAV usati per terapia genica per un'erogazione di un agente anti-VEGF, ad es. aflibercept, possono essere di qualsiasi sierotipo. In alcuni casi, i metodi della divulgazione prevedono l'uso di qualsiasi sierotipo di AAV idoneo, inclusi AAV1, AAV2, AAV2.5, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, rh10, AAV-DJ, e qualsiasi AAV ibrido o chimerico di essi. In alcuni casi, il sierotipo usato si basa sul tropismo del virus o sull'infettività di una cellula bersaglio di interesse. In alcuni casi, possono essere generati svariati vettori AAV per consentire una selezione del sierotipo più ottimale in assoluto per l'uso con un transgene di agente anti-VEGF (ad es. transgene di aflibercept).

In alcuni casi, i metodi della presente divulgazione prevedono l'uso di AAV pseudotipizzati. Le particelle di AAV pseudotipizzate comprendono ripetizioni terminali invertite (ITR) del genoma di AAV di un sierotipo di AAV incapsidate mediante un capsido di AAV di un altro sierotipo di AAV. Tipicamente, l'AAV pseudotipizzato è designato come "AAV n./n.", dove il primo "n." indica il sierotipo ITR di AAV e il secondo "n." indica il sierotipo del capsido. Per esempio, una particella di AAV comprendente ITR di AAV2 e un capsido di AAV1 viene designata come "AAV2/1".

In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono un acido nucleico, ad es. un acido nucleico eterologo. In alcuni casi, l'acido nucleico codifica un transgene, ad es. un agente anti-VEGF (ad es. aflibercept). In alcuni casi, il transgene codificato, ad es. agente anti-VEGF, è sotto il controllo trascrizionale di un promotore che avvia la trascrizione dell'acido nucleico. In alcuni casi, il promotore è un promotore "ubiquitario". In alcuni casi, il promotore è un promotore "forte" o costitutivamente attivo, ad es. un promotore del citomegalovirus (CMV), un promotore del fattore di elongazione 1 alfa (EF1a), un promotore della gliceraldeide 3-fosfato deidrogenasi (GAPDH), o un promotore della connessina36 (o "Cx36"). In alcuni casi, il promotore è un promotore tessuto-specifico che è attivato in tessuti o cellule specifici, come le cellule retiniche, per ridurre una potenziale tossicità o effetti indesiderati su cellule non bersaglio. In alcuni casi, possono essere generati svariati vettori AAV per consentire una selezione del sierotipo e del promotore più ottimali in assoluto per l'uso con il transgene di anti-VEGF (ad es. transgene di aflibercept). In alcuni casi, l'acido nucleico è fiancheggiato da ripetizioni terminali invertite (ITR) di AAV. In alcuni casi, l'acido nucleico è fiancheggiato da ITR di AAV2.

In alcuni casi, il vettore AAV comprende una cassetta di polinucleotide per un'espressione potenziata di un transgene (ad es. un agente anti-VEGF come aflibercept) in una cellula bersaglio (ad es. una cellula retinica). In alcuni casi, la cassetta di polinucleotide comprende, in ordine da 5' a 3': (a) una prima regione potenziatrice comprendente una sequenza CMV (ID di SEQ n. 22); (b) una regione promotrice, comprendente una sequenza CMV (ID di SEQ n. 23); (c) una regione 5'UTR comprendente, in ordine da 5' a 3', sequenze TPL ed eMLP (ID di SEQ n. 24 e ID di SEQ n. 25, rispettivamente); (d) una sequenza codificante che codifica un peptide o polipeptide (ad es. un agente anti-VEGF come aflibercept); (e) una seconda regione potenziatrice comprendente una sequenza EES piena (ID di SEQ n. 26); e (f) un sito di poliadenilazione di HGH (ID di SEQ n. 27). In certe di queste forme di realizzazione, la cassetta di polinucleotide comprende una o più sequenze selezionate tra ID di SEQ nn. 28-32, o una sequenza con almeno l'85% di identità rispetto a essa. In certe di queste forme di realizzazione, il braccio 5' della cassetta di polinucleotide comprende o consiste in ID di SEQ n. 33 o una sequenza con almeno l'85% di identità rispetto a essa. In certe di queste forme di realizzazione, il braccio in 3' della cassetta di polinucleotide comprende o consiste nell'ID di SEQ n. 34 o una sequenza con almeno l'85% di identità rispetto a essa. Le sequenze di acidi nucleici delle ID di SEQ nn. 22-34 sono fornite nel seguito:

```

ACTTACGGTA AATGGCCCCG CTGGCTGACC GCCCAACGAC CCCCGCCCAT TGACGTCAAT
AATGACGTAT GTTCCCATAG TAACGCCAAT AGGGACTTTC CATTGACGTC AATGGGTGGA
GTATTTACGG TAAACTGCCC ACTTGGCAGT ACATCAAGTG TATCATATGC CAAGTCCGCC
CCCTATTGAC GTCAATGACG GTAAATGGCC CGCCTGGCAT TATGCCCAGT ACATGACCTT
ACGGGACTTT CCTACTTGGC AGTACATCTA CGTATTAGTC ATCGCTATTA CCA (ID di SEQ n. 22)
TGCTGATGCG GTTTTGGCAG TACACCAATG GGCGTGGATA GCGGTTTGAC TCACGGGGAT
TTCCAAGTCT CCACCCCAT T GACGTCAATG GGAGTTTGT T TGGCACCAA AATCAACGGG
ACTTTCCAAA ATGTCGTAAT AACCCCGCCC CGTTGACGCA AATGGGCGGT AGGCGTGTAC
GGTGGGAGGT CTATATAAGC AGAGCTCGTT TAGTGAACCG (ID di SEQ n. 23)

```

CTCACTCTCT TCCGCATCGC TGTCTGCGAG GGCCAGCTGT TGGGCTCGCG GTTGAGGACA
 AACTCTTCGC GGTCTTTCCA GTACTCTTGG ATCGGAAACC CGTCGGCCTC CGAACGGTAC
 TCCGCCACCG AGGGACCTGA GCGAGTCCGC ATCGACCGBA TCGGAAAACC TCTCGAGAAA
 GGCCTCTAAC CAGTCACAGT CGCAAGGTAG GCTGAGCACC GTGGCGGGCG GCAGCGGGTG
 GCGGTCGGGG TTGTTTCTGG CGGAGGTGCT GCTGATGATG TAATTAAAGT AGGCGGTCTT
 GAGACGGCGG ATGGTCGA (ID di SEQ n. 24)
 CCAGCTGTTG GGGTGAGTAC TCCCTCTCAA AAGCGGGCAT TACTTCTGCG CTAAGATTGT
 CAGTTTCCAA AAACGAGGAG GATTTGATAT TCACCTGGCC CG (ID di SEQ n. 25)
 CTGTTCTCAT CACATCATAT CAAGGTTATA TACCATCAAT ATTGCCACAG ATGTTACTTA
 GCCTTTTAAAT ATTTCTCTAA TTTAGTGTAT ATGCAATGAT AGTTCTCTGA TTTCTGAGAT
 TGAGTTTCTC ATGTGTAATG ATTATTTAGA GTTTCTCTTT CATCTGTTCA AATTTTTGTC
 TAGTTTTATT TTTTACTGAT TTGTAAGACT TCTTTTTATA ATCTGCATAT TACAATTCTC
 TTTACTGGGG TGTTGCAAAT ATTTTCTGTC ATTCTATGGC CTGACTTTTC TTAATGGTTT
 TTTAATTTTA AAAATAAGTC TTAATATTCA TGCAATCTAA TTAACAATCT TTTCTTTGTG
 GTTAGGACTT TGAGTCATAA GAAATTTTTT TCTACACTGA AGTCATGATG GCATGCTTCT
 ATATTATTTT CTAATAAGATT TAAAGTTTTG CTTTCTCCAT TTAGACTTAT AATTCACTGG
 AATTTTTTTG TGTGTATGGT ATGACATATG GGTTCCCTTT TATTTTTTAC ATATAAATAT
 ATTTCCCTGT TTTTCTAAAA AAGAAAAAGA TCATCATTTT CCCATTGTAA AATGCCATAT
 TTTTTTCATA GGTCACCTAC ATATATCAAT GGGTCTGTTT CTGAGCTCTA CTCTATTTTA
 TCAGCCTCAC TGTCTATCCC CACACATCTC ATGCTTTGCT CTAATCTTG ATATTTAGTG
 GAACATTCTT TCCCATTTTG TTCTACAAGA ATATTTTTGT TATTGTCTTT GGGCTTTCTA
 TATACATTTT GAAATGAGGT TGACAAGTTA (ID di SEQ n. 26)
 CTGCCCAGGT GGCATCCCTG TGACCCCTCC CCAGTGCCTC TCCTGGCCCT GGAAGTTGCC
 ACTCCAGTGC CCACCAGCCT TGTCCCTAATA AAATTAAGTT GCATCATTTT GTCTGACTAG
 GTGTCCTTCT ATAATATTAT GGGGTGGAGG GGGGTGGTAT GGAGCAAGGG GCCCAAGTTG
 GGAAGAAACC TGTAGGGCCT GC (ID di SEQ n. 27)
 AGGCGGTCTT GAGACGGCGG ATGGTCGAGG TGAGGTGTGG CAGGCTTGAG ATCCAGCTGT
 TGGGGTGA (ID di SEQ n. 28)
 CGCTGTTTTG ACCTCCATAG TGGACACCGG GACCGATCCA GCCTCCGCGT CTCAGGGGAG
 ATCTCGTTTA GTGAACCGTC AGATCCTCAC TCTCTCCGC ATCGCTGTCT GCGAGGGCCA
 GCTGTTGGG (ID di SEQ n. 29)

TTGATATTCA CCTGGCCCGA TCTGGCCATA CACTTG (ID di SEQ n.

30)

CCCAGGTCCA AGTTTAAACG CC (ID di SEQ n. 31)

TCTTTGGGCT TTCTATATAC ATTTTGAAT GAGGTTGACA AGTTACCTAG GAAAACCTGTC
 TTCCTGCCCC GGTGGCA (ID di SEQ n. 32)

CTCTGGAGAC GACTTACGGT AAATGGCCCCG CCTGGCTGAC CGCCCAACGA CCCCCGCCCCA
 TTGACGTCAA TAATGACGTA TGTTCCCATA GTAACGCCAA TAGGGACTTT CCATTGACGT
 CAATGGGTGG AGTATTTACG GTAAACTGCC CACTTGGCAG TACATCAAGT GTATCATATG
 CCAAGTCCGC CCCCTATTGA CGTCAATGAC GGTAATGGC CCGCCTGGCA TTATGCCCAG
 TACATGACCT TACGGGACTT TCCTACTTGG CAGTACATCT ACGTATTAGT CATCGCTATT
 ACCATGCTGA TGCGGTTTTG GCAGTACACC AATGGGCGTG GATAGCGGTT TGACTCACGG
 GGATTTCCAA GTCTCCACCC CATTGACGTC AATGGGAGTT TGTTTTGGCA CCAAATCAA
 CGGGACTTTC CAAAATGTCG TAATAACCCC GCCCCGTTGA CGCAAATGGG CGGTAGGCGT
 GTACGGTGGG AGGTCTATAT AAGCAGAGCT CGTTTAGTGA ACCGTCAGAT CGCCTGGAGA
 GGCCATCCAC GCTGTTTTGA CCTCCATAGT GGACACCGGG ACCGATCCAG CCTCCGCGTC
 TCAGGGGAGA TCTCGTTTAG TGAACCGTCA GATCCTCACT CTCTCCGCA TCGCTGTCTG
 CGAGGGCCAG CTGTTGGGCT CGCGGTTGAG GACAACTCT TCGCGGTCTT TCCAGTACTC
 TTGGATCGGA AACCCGTCGG CCTCCGAACG GACTCCGCC ACCGAGGGAC CTGAGCGAGT
 CCGCATCGAC CGGATCGGAA AACCTCTCGA GAAAGGCGTC TAACCAGTCA CAGTCGCAAG
 GTAGGCTGAG CACCGTGGCG GGCGGCAGCG GGTGGCGGTC GGGGTTGTTT CTGGCGGAGG
 TGCTGCTGAT GATGTAATTA AAGTAGGCGG TCTTGAGACG GCGGATGGTC GAGGTGAGGT
 GTGGCAGGCT TGAGATCCAG CTGTTGGGGT GAGTACTCCC TCTCAAAGC GGGCATTACT
 TCTGCGCTAA GATTGTCAGT TTCCAAAAC GAGGAGGATT TGATATTCAC CTGGCCCCGAT
 CTGGCCATAC ACTTGAGTGA CAATGACATC CACTTTGCTT TTCTCTCCAC AGGTGTCCAC
 TCCCAGGTCC AAGTTTAAAC GCCGCCACCA TG (ID di SEQ n. 33)
 ACTGTTCTCA TCACATCATA TCAAGGTTAT ATACCATCAA TATTGCCACA GATGTTACTT
 AGCCTTTTAA TATTTCTCTA ATTTAGTGTA TATGCAATGA TAGTTCTCTG ATTTCTGAGA
 TTGAGTTTCT CATGTGTAAT GATTATTTAG AGTTTCTCTT TCATCTGTTT AAATTTTTGT
 CTAGTTTTAT TTTTTACTGA TTTGTAAGAC TTCTTTTTAT AATCTGCATA TTACAATTCT
 CTTTACTGGG GTGTTGCAAA TATTTTCTGT CATTCTATGG CCTGACTTTT CTTAATGGTT
 TTTTAATTTT AAAAATAAGT CTTAATATTC ATGCAATCTA ATTAACAATC TTTTCTTTGT
 GGTTAGGACT TTGAGTCATA AGAAATTTTT CTCTACACTG AAGTCATGAT GGCATGCTTC
 TATATTATTT TCTAAAAGAT TTAAAGTTTT GCCTTCTCCA TTTAGACTTA TAATTCAGTG
 GAATTTTTTT GTGTGTATGG TATGACATAT GGGTTCCTT TTATTTTTTA CATATAAATA
 TATTTCCCTG TTTTCTAAA AAAGAAAAAG ATCATCATTT TCCATTGTA AAATGCCATA
 TTTTTTTCAT AGGTCACTTA CATATATCAA TGGGTCTGTT TCTGAGCTCT ACTCTATTTT
 ATCAGCCTCA CTGTCTATCC CCACACATCT CATGCTTTGC TCTAAATCTT GATATTTAGT
 GGAACATTCT TTCCCATTTT GTTCTACAAG AATATTTTTG TTATTGTCTT TGGGCTTTCT
 ATATACATTT TGAAATGAGG TTGACAAGTT ACCTAGGAAA ACTGTCTTCC TGCCCGGGTG
 GCATCCCTGT GACCCCTCCC CAGTGCCTCT CCTGGCCCTG GAAGTTGCCA CTCCAGTGCC
 CACCAGCCTT GTCCTAATAA AATTAAGTTG CATCATTTTG TCTGACTAGG TGTCCTTCTA
 TAATATTATG GGGTGGAGGG GGGTGGTATG GAGCAAGGGG CCCAAGTTGG GAAGAAACCT
 GTAGGGCCTG CGAAGACAGT CAG (ID di SEQ n. 34)

In alcuni casi, la cassetta di polinucleotide comprende o consiste in ID di SEQ n. 39 o una sequenza con almeno l'85% di identità rispetto a essa.

gcgcgctcgcctcgcctcactgagggccgcccgggcaaagcccgggctcgggcgacctttggtcgcccggcct
cagtgagcgagcgagcgcgagagagggagtgcccaactccatcactaggggttccttgtagttaatgatt
aaccggccatgctacttatctacgtactctggagacgacttacggtaaataggccgcctggctgaccgcc
aacgacccccgcccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattg
acgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtc
cgccccctattgacgtcaatgacggtaaataggccgcctggcattatgcccagtacatgaccttacgggac
tttccctacttggcagtacatctacgtattagtcacgcctattaccatgctgatgcggttttggcagtacac
caatgggctggatagcggtttgactcacggggatttccaagtctccaccccattgacgtcaatgggagtt
tgttttggcaccaaaatacaacgggactttccaaaatgtcgtaataacccccgcccgttgacgcaaatgggc
ggtaggcgtgtacgggtgggaggtctatataagcagagctcgtttagtgaaccgtcagatcgctggagagg
ccatccacgctgttttgacctccatagtgacacccgggaccgatccagcctccgctcaggggagatct
cgtttagtgaaccgtcagatcctcactctcttccgcatcgctgtctgcgagggccagctgttgggctcgcg
gttgaggacaaaactcttcgcggtcttccagtaactcttggatcggaaaaccgctcggcctccgaacggctact
ccgccaccgagggacctgagcgagtcgcatcgaccggatcgaaaaacctctcgagaaaggcgtctaacca
gtcacagtcgcaaggtaggctgagcaccgtggcgggaggcagcgggtggcggtcggggtgtttctggcgg
aggtgctgctgatgatgtaattaaagtaggcggctcttgagacggcggatgggtcgaggtgaggtgtggcagg
cttgagatccagctgttggggtgagtactccctctcaaaaagcgggcatctactctgcgctaagattgtcag

ttccaaaaacgaggaggatgtgatattcacctggcccgatctggccatacaacttgagtgacaatgacatc
 cactttgcctttctctccacaggtgtccactcccaggtccaagtttaaacgccgccaccatgggtgtcatac
 tgggatactggagtccttgctttgtgccctgctgtcctgcctcctcctgactggctccagctcgggctcaga
 taccggtcgcccccttcgtggagatgtactccgagatcccggaaattatccacatgactgagggggcggaac
 ttgtgatcccctgccgggtcaccagcccgaacattactgtgactttgaagaagtccccctggacaccctg
 attccggatgggaagagaattatctgggattcacggaagggttcatcatcagcaacgcgacctaacaagga
 aattggcctcctcacttgcgaagccactgtgaacggacacttgtacaagaccaactacctgaccaccgcc
 agaccaacaccatcatcgacgtcgtcctgtccccttcgcacgggatcgagctctcgggtgggagagaagttg
 gtgcttaactgcaccgcccggacggaactgaatgtgggaatcgacttcaactgggaatacccgtccagcaa
 gcatcagcataagaagctggtgaaccgggacctcaagactcagtcgggcagcgaatgaagaagttcctgt
 cgaccctcactattgacggagtgaccagatccgaccagggcctctacacttgcgcccgttccagcggactc
 atgaccaagaagaacagcactttcgtgaggggtgatgagaaggacaagaccacacgtgtccgccgtgcc
 agccccagagctgctgggagggcccttccgtgttccgtttccgcccaagccaaaggataccctgatgatct
 caaggaccctgaggtcacatgcgtcgtggtggatgtgtcgcacgaggacctgaagtcaaattcaattgg
 tatgtggacggagtggaaagccacaacgcgaaaaccaagccgagagaagaacagtacaattccacctaccg
 ggtggtgtcgggtgctgactgtgctgcaccaggactggctcaacggaaaggagtacaagtgaaggtgtcca
 acaaggctctgcccgcacctattgaaaagaccatctccaaggccaagggtcaacctcgcgagcctcaggtg
 tacactctgcctccaagccgggacgaaactgactaagaaccaagtctctctgacctgtttgggtgaagggctt
 ctaccctcagacatcgcagtgagtgagggtcaaacggtcagccggagaacaactacaaaaaaccccc
 ccgtgctggactccgacggctccttcttctgtaactccaagcttaccgtggataagagccgtggcaacag
 ggcaacgtgttttctgctccgtcatgcacgaagccctgcacaaccattataccagaagtccctgtcgt
 gtccccgggaaatagtgactgttctcatcacatcatatcaaggttatataccatcaatattgccacagat
 gttacttagccttttaataatttctctaatttagtgtatatgcaatgatagttctctgatttctgagattga
 gtttctcatgtgtaatgattatttagagtttctcttctcatctgttcaaattttgtctagttttattttt
 actgatttgaagacttctttttataatctgcatattacaattctctttactgggggtgtgcaaatatttt
 ctgtcattctatggcctgacttttcttaatggttttttaattttaaaaataagtcttaatatcatgcaat
 ctaattaacaatcttttcttgggttaggactttgagtcataagaatttttctctacactgaagtcag
 atggcatgcttctatatttttctaaaagatttaagttttgccttctccatttagacttataattcact
 ggaattttttgtgtgtatggtatgacatatgggttcccttttattttttacatataaatatattccctg
 ttttctaaaaaaagaaaaagatcatctttcccattgtaaaatgccatattttttcataggtcacttac
 atatatcaatgggtctgtttctgagctctactctattttatcagcctcactgtctatccccacacatctca
 tgctttgctctaaatcttgatatttagtggaaacttcttcccattttgttctacaagaatattttgtta
 ttgtctttgggctttctatatacattttgaaatgaggttgacaagttacctaggaaaactgtcttccctgcc
 cgggtggcatccctgtgacccccccccagtcctctcctggccctggaagttgccactccagtgcccacca
 gccttgcctaataaaaattaagttgcatcattttgtctgactaggtgtccttctataatattatgggtgg
 aggggggtggtatggagcaaggggccaagttgggaagaaacctgtaggcctgcgtacgtagataagtag
 catggcgggttaatcattaactacaaggaaccctagtgatggagttggccaactccctctctgcgcgctcg
 ctgcctcactgagggccgggacgaccaaagggtcgcccagcggccgggctttgcccgggcccgtcagtgagcg
 agcgagcgcgc (ID di SEQ n. 39)

ID di SEQ n. 39 mostrata sopra comprende, nella direzione da 5' a 3', una ripetizione terminale invertita (ITR) del sierotipo 2 di AAV comprendente i nucleotidi 1-145 di ID di SEQ n. 39; un promotore di CMV comprendente i nucleotidi 180-693 di ID di SEQ n. 39; una regione non tradotta (UTR) in 5', che include una sequenza leader tripartita di adenovirus e un introne sintetico, e comprendente i nucleotidi 694-1314 di ID di SEQ n. 39; una sequenza di Kozak comprendente i nucleotidi 1329-1340 di ID di SEQ n. 39; una sequenza di cDNA di aflibercept ottimizzata per codone comprendente i nucleotidi 1338-2714 di ID di SEQ n. 39; una UTR in 3' includente una regione di attacco a impalcatura umana e comprendente i nucleotidi 2717-3527 di ID di SEQ n. 39; un segnale di arresto di poliadenilazione/trascrizione dell'ormone di crescita umano comprendente i nucleotidi 3546-3748 di ID di SEQ n. 39; e una ripetizione terminale invertita (ITR) del sierotipo 2 di AAV comprendente i nucleotidi 3772-3916 di ID di SEQ n. 39. *Si veda, ad es., la FIG. 1C.*

Cassette di polinucleotidi aggiuntive per un'espressione potenziata di un transgene (ad es. un transgene che codifica un agente anti-VEGF come aflibercept) in una cellula bersaglio (come una cellula retinica) sono divulgate in WO2018/170473.

In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono una proteina di capsidi di variante avente infettività aumentata di cellule bersaglio, ad es. cellule retiniche, sono usate per aumentare la trasduzione di cellule retiniche o per aumentare il bersagliamento dell'erogazione genica a cellule retiniche in un individuo. In alcuni casi, la particella di rAAV comprende una modifica di amminoacido in un'ansa GH/ansa IV di proteina di capsidi della proteina di capsidi di AAV. In alcuni casi, il sito di modifica è una porzione accessibile al

solvente dell'ansa GH/ansa IV della proteina di capsid di AAV. Per una descrizione dell'ansa GH/ansa IV del capsid di AAV, si veda, ad es., van Vliet et al. (2006) Mol. Ther. 14:809; Padron et al. (2005) J. Virol. 79:5047; e Shen et al. (2007) Mol. Ther. 15:1955. Sono note svariate varianti di capsid di AAV, inclusa la variante 7m8. In alcuni casi, una particella di rAAV comprende una proteina di capsid di AAV variante che comprende un'inserzione da 5 amminoacidi a 11 amminoacidi, ad es. una sequenza di 7 amminoacidi, nell'ansa GH di una proteina di capsid rispetto a una corrispondente proteina di capsid di AAV parentale, e in cui la proteina di capsid variante conferisce un'infettività aumentata di una cellula retinica in confronto all'infettività della cellula retinica da parte di una particella di AAV comprendente la corrispondente proteina di capsid di AAV parentale o non modificata. In alcuni casi, una qualsiasi delle seguenti sequenze di amminoacidi può essere inserita nell'ansa GH di una proteina di capsid: LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1); LANETITRPA (ID di SEQ n. 2), LAKAGQANNA (ID di SEQ n. 3), LAKDPKTTNA (ID di SEQ n. 4), KDTDTTR (ID di SEQ n. 5), RAGGSVG (ID di SEQ n. 6), AVDTTKF (ID di SEQ n. 7), STGKVPN (ID di SEQ n. 8), LAKDTRTTRA (ID di SEQ n. 9), LARAGGSVGA (ID di SEQ n. 10), LAAVDTTKFA (ID di SEQ n. 11), e LASTGKVPNA (ID di SEQ n. 12), LGETTRP (ID di SEQ n. 14), NETITRP (ID di SEQ n. 15), KAGQANN (ID di SEQ n. 16), KDPKTTN (ID di SEQ n. 17), KDTDTTR (ID di SEQ n. 18), RAGGSVG (ID di SEQ n. 19), AVDTTKF (ID di SEQ n. 20), e STGKVPN (ID di SEQ n. 21). In alcuni casi, una qualsiasi delle sequenze di amminoacidi esposte nelle ID di SEQ nn. 1-12 e 14-21 è inserita nell'ansa GH esposta a solvente della proteina di capsid VP1 in un rAAV. Dettagli aggiuntivi riguardanti sequenze di amminoacidi che possono essere

inserite nell'ansa GH di una proteina di capsida, ad es., per facilitare la trasduzione di un acido nucleico d'interesse a una cellula retinica in seguito a iniezione IVT, sono forniti in WO2012145601, US9587282, US10202657 e US10214785, che disaminano anche le sequenze di amminoacidi che possono essere inserite nell'ansa GH di una proteina di capsida.

In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono una proteina di capsida di AAV, ad es. una proteina di capsida di AAV2, che include una qualsiasi delle seguenti sequenze di amminoacidi: LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1); LANETITRPA (ID di SEQ n. 2), LAKAGQANNA (ID di SEQ n. 3), LAKDPKTTNA (ID di SEQ n. 4), KDTDTTR (ID di SEQ n. 5), RAGGSVG (ID di SEQ n. 6), AVDTTKF (ID di SEQ n. 7), STGKVPN (ID di SEQ n. 8), LAKDTDTTRA (ID di SEQ n. 9), LARAGGSVGA (ID di SEQ n. 10), LAAVDTTKFA (ID di SEQ n. 11), e LASTGKVPNA (ID di SEQ n. 12), LGETTRP (ID di SEQ n. 14), NETITRP (ID di SEQ n. 15), KAGQANN (ID di SEQ n. 16), KDPKTTN (ID di SEQ n. 17), KDTDTTR (ID di SEQ n. 18), RAGGSVG (ID di SEQ n. 19), AVDTTKF (ID di SEQ n. 20), e STGKVPN (ID di SEQ n. 21) inserita in corrispondenza delle seguenti posizioni: tra le posizioni 587 e 588 della proteina di capsida di AAV2; tra gli amminoacidi 590 e 591 della proteina di capsida di AAV1; tra gli amminoacidi 575 e 576 della proteina di capsida di AAV5; tra gli amminoacidi 590 e 591 della proteina di capsida di AAV6; tra gli amminoacidi 589 e 590 della proteina di capsida di AAV7; tra gli amminoacidi 590 e 591 della proteina di capsida di AAV8; tra gli amminoacidi 588 e 589 della proteina di capsida di AAV9; o tra gli amminoacidi 589 e 590 della proteina di capsida di AAV10. In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono proteine di capsida di AAV2 comprendenti una sequenza di

amminoacidi LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1) inserita tra le posizioni 587 e 588 della proteina di capsida, in cui la numerazione dei residui di amminoacidi corrisponde a una proteina di capsida VP1 di AAV2. In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono proteine di capsida di AAV2 comprendenti la sequenza di amminoacidi LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1) inserita tra le posizioni 587 e 588 della VP1 di AAV2 comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 13.

In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono la proteina di capsida della variante 7m8 da AAV2 comprendente la sequenza di amminoacidi LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1) inserita nell'ansa GH della proteina VP1 di AAV2 tra le posizioni 587 e 588 della VP1 di AAV2. In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono una proteina di capsida VP1 di AAV2 comprendente un'ansa GH che comprende la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 38 o una sequenza di amminoacidi avente almeno il 90% di identità di sequenza con ID di SEQ n. 38. In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono una proteina di capsida VP1 di AAV2 comprendente un'ansa GH che comprende una sequenza di amminoacidi avente qualsiasi tra almeno il 90%, almeno il 91%, almeno il 92%, almeno il 93%, almeno il 94%, almeno il 95%, almeno il 96%, almeno il 97%, almeno il 98%, almeno il 99%, o il 100% di identità di sequenza con ID di SEQ n. 38.

FSYTFEDVVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYLSRTNTPSGTTTQSRLQFSQAGASDI
RDQSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYHLNGRDSLVPNGPAMASHKDDE
EKFFPQSGVLIFGKQGSEKTNVDIEKVMITDEEEIRTNPVATEQYGSVSTNLQRGNLAL
GETTRPARQAATADVNTQGVLPGMVWQDRDVYLGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLK
HPPQILIKN (ID di SEQ n. 38)

In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono la proteina di capsida della variante 7m8 da AAV2 comprendente la sequenza di amminoacidi

LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1) inserita tra le posizioni 587 e 588 della VP1 di AAV2. La sequenza della proteina di capsida della variante 7m8 da AAV2 comprendente la sequenza di amminoacidi LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1) è inserita tra le posizioni 587 e 588 della VP1 di AAV2 è fornita nel seguito:

MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLDKGE
 PVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADADEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRV
 LEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEHSPVEPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTDADSVDPDQPLG
 QPPAAPSGLGTNTMATGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWMGDRVITTTSTRTWALPT
 YNNHLYKQISSQSGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRHFCHFSRQDWQRLINNNWGFPRKRLNFKL
 FNIQVKEVTQNDGTTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTL
 NNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNTFSYTFEDVPPHSSY AHSQSLDRLMNPLIDQYLYYL
 SRTNTPSGTTTTQSRQLQFSQAGASDIRDQSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYH
 LNGRDSLVPNPGPAMASHKDDEEKFFPQSGVLIFGKQGSEKTNVDIEKVMITDEEEIRTTNPVATE
 QYGSVSTNLQRGNLALGETTRPARQAATADVNTQGVLPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDG
 HFHPSPLMGGFGLKHPPPQILIKNTPVPANPSTTFSAAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR
 WNPEIQYTSNYNKSVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL (ID di SEQ n. 37)

In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono una proteina di capsida VP1 comprendente la sequenza di amminoacidi LGETTRP (ID di SEQ n. 14) inserita tra le posizioni 587 e 588 della proteina di capsida, in cui la numerazione dei residui di amminoacidi corrisponde a una proteina di capsida VP1 di AAV2. In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono una proteina di capsida VP2 comprendente la sequenza di amminoacidi LGETTRP (ID di SEQ n. 14) inserita tra le posizioni 587 e 588 della proteina di capsida, in cui la numerazione dei residui di amminoacidi corrisponde a una proteina di capsida VP1 di AAV2. In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono una proteina di capsida VP3 comprendente la sequenza di amminoacidi LGETTRP (ID di SEQ n. 14) inserita tra le posizioni 587 e 588 della proteina di capsida, in cui la numerazione dei residui di amminoacidi corrisponde a una proteina di capsida

VP1 di AAV2. In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono proteine di capside VP1, VP2 e VP3, in cui ciascuna tra VP1, VP2 e VP3 comprende la sequenza di amminoacidi LGETTRP (ID di SEQ n. 14) inserita tra le posizioni 587 e 588 della proteina di capside, in cui la numerazione dei residui di amminoacidi corrisponde a una proteina di capside VP1 di AAV2.

In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono una proteina di capside VP1 comprendente la sequenza di amminoacidi LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1) inserita tra le posizioni 587 e 588 della proteina di capside, in cui la numerazione dei residui di amminoacidi corrisponde a una proteina di capside VP1 di AAV2. In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono una proteina di capside VP2 comprendente la sequenza di amminoacidi LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1) inserita tra le posizioni 587 e 588 della proteina di capside, in cui la numerazione dei residui di amminoacidi corrisponde a una proteina di capside VP1 di AAV2. In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono una proteina di capside VP3 comprendente la sequenza di amminoacidi LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1) inserita tra le posizioni 587 e 588 della proteina di capside, in cui la numerazione dei residui di amminoacidi corrisponde a una proteina di capside VP1 di AAV2. In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono proteine di capside VP1, VP2 e VP3, in cui ciascuna tra VP1, VP2 e VP3 comprende la sequenza di amminoacidi LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1) inserita tra le posizioni 587 e 588 della proteina di capside, in cui la numerazione dei residui di amminoacidi corrisponde a una proteina di capside VP1 di AAV2.

In alcuni casi, un virus ricombinante e/o plasmide usato per generare un virus rAAV comprende altri elementi trascrizionali o regolatori, come una sequenza di poli A (poliadenilazione), regioni non tradotte (UTR), UTR in 3', o

sequenze di terminazione. In alcuni casi, più di un gene è espresso dal vettore o plasmide usando un sito interno di ingresso di ribosomi (IRES, Internal Ribosome Entry Site) o elementi simili che consentono una coespressione di due o più proteine o creano mRNA multigenico, o policistronico.

In alcuni casi, il rAAV e/o plasmide usato per generare il rAAV comprende uno o più dei seguenti elementi di acido nucleico: una prima sequenza ITR; una sequenza promotore; una sequenza di introni; una prima sequenza UTR; un acido nucleico eterologo che codifica un agente anti-VEGF (ad es. aflibercept); una seconda sequenza UTR; una sequenza di poliA; e una seconda sequenza ITR. In alcuni casi, una/delle sequenza/e linker è/sono inserita/e tra due o più degli elementi di acido nucleico. In alcuni casi, l'acido nucleico eterologo codifica un polipeptide terapeutico, ad es. codifica aflibercept (o un frammento funzionale o variante funzionale di esso).

In alcuni casi, il vettore è un vettore mirato, specialmente un rAAV mirato (ad es. AAV2.7m8) che mostra infettività più alta di una cellula specifica, come una cellula retinica (ad es. un fotorecettore, una cellula gangliare retinica, una cellula di Müller, una cellula bipolare, una cellula amacrina, una cellula orizzontale o una cellula dell'epitelio pigmentato retinico). Vettori virali per l'uso nella divulgazione possono includere quelli che esibiscono bassa tossicità e/o bassa immunogenicità in un individuo ed esprimono quantitativi terapeuticamente efficaci dell'agente anti-VEGF (ad es. aflibercept) in un individuo, ad es. un essere umano. Qualsiasi metodo idoneo noto nell'arte può essere usato nella purificazione biochimica di virus ricombinanti (ad es. rAAV), ad es. per la preparazione di composizioni farmaceutiche descritte altrove nel presente contesto. I virus AAV ricombinanti possono essere raccolti

direttamente dalle cellule o dai terreni di coltura comprendenti le cellule. Il virus può essere purificato usando vari mezzi biochimici, come gel-filtrazione, filtrazione, cromatografia, purificazione per affinità, ultracentrifugazione a gradiente o metodi di esclusione dimensionale. In alcuni casi, il virus è liofilizzato.

In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono una proteina di capside della variante 7m8, ad es. rAAV2.7m8, e una sequenza di acido nucleico che codifica un agente anti-VEGF (ad es. aflibercept, o un frammento funzionale o variante funzionale di esso). In alcuni casi, le particelle di rAAV (ad es. la variante 7m8) hanno un aumento dell'infettività delle cellule retiniche di qualsiasi tra almeno il 5%, almeno il 10%, almeno il 20%, almeno il 30%, almeno il 40%, almeno il 50%, almeno il 60%, almeno il 70%, almeno l'80%, almeno il 90%, o almeno il 100% in confronto a una particella di AAV comprendente la corrispondente proteina di capside di AAV parentale o non modificata. In alcuni casi, l'aumento dell'infettività delle cellule retiniche è un aumento di qualsiasi tra il 5% e il 100%, tra il 5% e il 95%, tra il 5% e il 90%, tra il 5% e l'85%, tra il 5% e l'80%, tra il 5% e il 75%, tra il 5% e il 70%, tra il 5% e il 65%, tra il 5% e il 60%, tra il 5% e il 55%, tra il 5% e il 50%, tra il 5% e il 45%, tra il 5% e il 40%, tra il 5% e il 35%, tra il 5% e il 30%, tra il 5% e il 25%, tra il 5% e il 20%, tra il 5% e il 15%, o tra il 5% e il 10%, in confronto a una particella di AAV comprendente la corrispondente proteina di capside di AAV parentale o non modificata.

In alcuni casi, l'aumento dell'infettività delle cellule retiniche di una variante di rAAV, ad es. rAAV2.7m8, è qualsiasi tra almeno 1 volta, almeno 1,1 volte, almeno 1,2 volte, almeno 1,3 volte, almeno 1,4 volte, almeno 1,5 volte,

almeno 1,6 volte, almeno 1,7 volte, almeno 1,8 volte, almeno 1,9 volte o almeno 2 volte in confronto a una particella di AAV comprendente la corrispondente proteina di capsidi di AAV parentale o non modificata. In alcuni casi, l'aumento dell'infettività è qualsiasi tra almeno 2 volte, almeno 3 volte, almeno 4 volte, almeno 5 volte, almeno 6 volte, almeno 7 volte, almeno 8 volte, almeno 9 volte o almeno 10 volte, in confronto a una particella di AAV comprendente la corrispondente proteina di capsidi di AAV parentale. In alcuni casi, l'aumento dell'infettività è qualsiasi tra almeno 15 volte, almeno 20 volte, almeno 25 volte, almeno 30 volte, almeno 35 volte, almeno 40 volte, almeno 45 volte, almeno 50 volte, almeno 55 volte, almeno 60 volte, almeno 65 volte, almeno 70 volte, almeno 75 volte, almeno 80 volte, almeno 85 volte, almeno 90 volte o almeno 100 volte in confronto a una particella di AAV comprendente la corrispondente proteina di capsidi di AAV parentale o non modificata.

In alcuni casi, l'aumento dell'infettività delle cellule retiniche di una variante di rAAV, ad es. rAAV2.7m8, è tra 10 volte e 100 volte, tra 10 volte e 95 volte, tra 10 volte e 90 volte, tra 10 volte e 85 volte, tra 10 volte e 80 volte, tra 10 volte e 75 volte, tra 10 volte e 70 volte, tra 10 volte e 65 volte, tra 10 volte e 60 volte, tra 10 volte e 55 volte, tra 10 volte e 50 volte, tra 10 volte e 45 volte, tra 10 volte e 40 volte, tra 10 volte e 35 volte, tra 10 volte e 30 volte, tra 10 volte e 25 volte, tra 10 volte e 20 volte o tra 10 volte e 15 volte in confronto a una particella di AAV comprendente la corrispondente proteina di capsidi di AAV parentale o non modificata.

In alcuni casi, l'aumento dell'infettività delle cellule retiniche è tra 2 volte e 20 volte, tra 2 volte e 19 volte, tra 2 volte e 18 volte, tra 2 volte e 17 volte, tra 2 volte e 16 volte, tra 2 volte e 15 volte, tra 2 volte e 14 volte, tra 2 volte e 13

volte, tra 2 volte e 12 volte, tra 2 volte e 11 volte, tra 2 volte e 10 volte, tra 2 volte e 9 volte, tra 2 volte e 8 volte, tra 2 volte e 7 volte, tra 2 volte e 6 volte, tra 2 volte e 5 volte, tra 2 volte e 4 volte, o tra 2 volte e 3 volte, in confronto a una particella di AAV comprendente la corrispondente proteina di capside di AAV parentale o non modificata.

In alcuni casi, una modifica di amminoacido di una proteina di capside descritta nel presente contesto può conferire un aumento di un'abilità di attraversare una membrana limitante interna (ILM, Internal Limiting Membrane) in un occhio di un individuo, ad es. un essere umano, in confronto all'abilità di una particella di AAV comprendente la corrispondente proteina di capside di AAV parentale o non modificata di attraversare l'ILM nell'occhio del soggetto. In alcuni casi, l'aumento dell'abilità di attraversare l'ILM di una variante di rAAV, ad es. rAAV2.7m8, è un aumento di qualsiasi tra almeno il 5%, almeno il 10%, almeno il 20%, almeno il 30%, almeno il 40%, almeno il 50%, almeno il 60%, almeno il 70%, almeno l'80%, almeno il 90%, o almeno il 100% in confronto a una particella di AAV comprendente la corrispondente proteina di capside di AAV parentale o non modificata. In alcuni casi, l'aumento dell'abilità di attraversare l'ILM è un aumento tra il 5% e il 100%, tra il 5% e il 95%, tra il 5% e il 90%, tra il 5% e l'85%, tra il 5% e l'80%, tra il 5% e il 75%, tra il 5% e il 70%, tra il 5% e il 65%, tra il 5% e il 60%, tra il 5% e il 55%, tra il 5% e il 50%, tra il 5% e il 45%, tra il 5% e il 40%, tra il 5% e il 35%, tra il 5% e il 30%, tra il 5% e il 25%, tra il 5% e il 20%, tra il 5% e il 15%, o tra il 5% e il 10%, in confronto alla proteina di capside di AAV parentale o non modificata.

In alcuni casi, l'aumento dell'abilità di attraversare l'ILM di una variante di rAAV, ad es. rAAV2.7m8, è qualsiasi tra almeno 1 volta, almeno 1,1 volte,

almeno 1,2 volte, almeno 1,3 volte, almeno 1,4 volte, almeno 1,5 volte, almeno 1,6 volte, almeno 1,7 volte, almeno 1,8 volte, almeno 1,9 volte, o almeno 2 volte in confronto a una particella di AAV comprendente la corrispondente proteina di capsido di AAV parentale. In alcuni casi, l'aumento dell'abilità di attraversare l'ILM è qualsiasi tra almeno 2 volte, almeno 3 volte, almeno 4 volte, almeno 5 volte, almeno 6 volte, almeno 7 volte, almeno 8 volte, almeno 9 volte, o almeno 10 volte, in confronto a una particella di AAV comprendente la corrispondente proteina di capsido di AAV parentale. In alcuni casi, l'aumento dell'abilità di attraversare l'ILM è qualsiasi tra almeno 15 volte, almeno 20 volte, almeno 25 volte, almeno 30 volte, almeno 35 volte, almeno 40 volte, almeno 45 volte, almeno 50 volte, almeno 55 volte, almeno 60 volte, almeno 65 volte, almeno 70 volte, almeno 75 volte, almeno 80 volte, almeno 85 volte, almeno 90 volte, o almeno 100 volte in confronto a una particella di AAV comprendente la corrispondente proteina di capsido di AAV parentale o non modificata.

In alcuni casi, l'aumento dell'abilità di attraversare l'ILM di una variante di rAAV, ad es. rAAV2.7m8, è tra 10 volte e 100 volte, tra 10 volte e 95 volte, tra 10 volte e 90 volte, tra 10 volte e 85 volte, tra 10 volte e 80 volte, tra 10 volte e 75 volte, tra 10 volte e 70 volte, tra 10 volte e 65 volte, tra 10 volte e 60 volte, tra 10 volte e 55 volte, tra 10 volte e 50 volte, tra 10 volte e 45 volte, tra 10 volte e 40 volte, tra 10 volte e 35 volte, tra 10 volte e 30 volte, tra 10 volte e 25 volte, tra 10 volte e 20 volte, o tra 10 volte e 15 volte in confronto a una particella di AAV comprendente la corrispondente proteina di capsido di AAV parentale o non modificata.

In alcuni casi, l'aumento dell'abilità di attraversare l'ILM di una variante di rAAV, ad es. rAAV2.7m8, è tra 2 volte e 20 volte, tra 2 volte e 19 volte, tra 2

volte e 18 volte, tra 2 volte e 17 volte, tra 2 volte e 16 volte, tra 2 volte e 15 volte, tra 2 volte e 14 volte, tra 2 volte e 13 volte, tra 2 volte e 12 volte, tra 2 volte e 11 volte, tra 2 volte e 10 volte, tra 2 volte e 9 volte, tra 2 volte e 8 volte, tra 2 volte e 7 volte, tra 2 volte e 6 volte, tra 2 volte e 5 volte, tra 2 volte e 4 volte, o tra 2 volte e 3 volte, in confronto a una particella di AAV comprendente la corrispondente proteina di capsida di AAV parentale o non modificata.

In alcuni casi, rAAV.7m8 comprendente acido nucleico codificante aflibercept è usato per terapia genica. In alcuni casi, AAV2 o rAAV2 è usato per erogare una sequenza di acido nucleico codificante un agente anti-VEGF (ad es. aflibercept) in un occhio o nelle cellule retiniche di un soggetto tramite iniezione intravitreale o sottoretinica. In alcuni casi, AAV2 o rAAV2 è usato per erogare una sequenza di acido nucleico codificante un agente anti-VEGF (ad es. aflibercept) in un occhio o nelle cellule retiniche di un soggetto tramite iniezione intravitreale. In alcuni casi, rAAV2.7m8 è usato per erogare la sequenza di acido nucleico dell'agente anti-VEGF (ad es. aflibercept) nelle cellule retiniche di un soggetto. In alcuni casi, l'acido nucleico eterologo (ad es. un acido nucleico che codifica un agente anti-VEGF come aflibercept) è integrato nel genoma della cellula bersaglio (ad es. genoma di cellula retinica), dando come risultato un'espressione a lungo termine, ad es., dell'agente anti-VEGF (come aflibercept), nella cellula bersaglio. In alcuni casi, il vettore virale eroga un plasmide o altro elemento genetico extracromosomico che comprende l'acido nucleico eterologo (ad es. un acido nucleico che codifica un agente anti-VEGF come aflibercept) alla cellula bersaglio (ad es. cellula retinica).

In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono un acido nucleico codificante un polipeptide comprendente una sequenza di amminoacidi con

qualsiasi tra almeno circa il 95%, almeno circa il 96%, almeno circa il 97%, almeno circa il 98%, almeno circa il 99%, o almeno circa il 100% di identità con la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 35 e fiancheggiato da ripetizioni terminali invertite (ITR) di AAV2. In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono un acido nucleico codificante un polipeptide comprendente una sequenza di amminoacidi con almeno circa il 95% di identità con la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 35 e fiancheggiato da ripetizioni terminali invertite (ITR) di AAV2. In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono un acido nucleico codificante un polipeptide comprendente la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 35 e fiancheggiato da ripetizioni terminali invertite (ITR) di AAV2. In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono un acido nucleico codificante un polipeptide comprendente la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 35. In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono un acido nucleico codificante affibercept e fiancheggiato da ripetizioni terminali invertite (ITR) di AAV2. La sequenza di ID di SEQ n. 35 è fornita nel seguito:

```
SDTGRPFVEMYSEIPEIIHMTEGRELVIPCRVTSNPITVTLKKFPLDTLIPDGKRIIWDSRKGFIISNATY
KEIGLLTCEATVNGHLYKTNYLTHRQTNTIIDVVLSPSHGIELSVGEKLVNLNCTARTELVNGIDFNWEYPS
SKHQHKKLVNRDLKTQSGSEMKKFLSTLTIDGVTRSDQGLYTCAASSGLMTKKNSTFVRVHEKDKTHTCPP
CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPG (ID di SEQ n. 35)
```

In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono un acido nucleico con qualsiasi tra almeno circa il 75%, almeno circa l'80%, almeno circa l'81%, almeno circa l'82%, almeno circa l'83%, almeno circa l'84%, almeno circa l'85%, almeno circa l'86%, almeno circa l'87%, almeno circa l'88%, almeno circa l'89%, almeno circa il 90%, almeno circa il 91%, almeno circa il 92%, almeno circa il 93%, almeno circa il 94%, almeno circa il 95%, almeno circa il 96%, almeno

circa il 97%, almeno circa il 98%, almeno circa il 99%, almeno circa il 99,9%, o almeno circa il 100% di omologia di sequenza con la sequenza di acido nucleico di ID di SEQ n. 36, e in cui l'acido nucleico è fiancheggiato da ripetizioni terminali invertite (ITR) di AAV2. La sequenza di ID di SEQ n. 36 è fornita nella FIG. 5. In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono un acido nucleico con qualsiasi tra almeno circa il 75%, almeno circa l'80%, almeno circa l'81%, almeno circa l'82%, almeno circa l'83%, almeno circa l'84%, almeno circa l'85%, almeno circa l'86%, almeno circa l'87%, almeno circa l'88%, almeno circa l'89%, almeno circa il 90%, almeno circa il 91%, almeno circa il 92%, almeno circa il 93%, almeno circa il 94%, almeno circa il 95%, almeno circa il 96%, almeno circa il 97%, almeno circa il 98%, almeno circa il 99%, almeno circa il 99,9%, o almeno circa il 100% di omologia di sequenza con la sequenza di acido nucleico di aflibercept (ad es. ID di SEQ n. 36), e in cui l'acido nucleico è fiancheggiato da ripetizioni terminali invertite (ITR) di AAV2. In alcuni casi, la sequenza di acido nucleico di aflibercept è derivata dalla sua sequenza di amminoacidi. In alcuni casi, la sequenza di acido nucleico di aflibercept è ottimizzata per i codoni per migliorare la sua espressione in un soggetto. In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono un acido nucleico con qualsiasi tra almeno circa il 75%, almeno circa l'80%, almeno circa l'81%, almeno circa l'82%, almeno circa l'83%, almeno circa l'84%, almeno circa l'85%, almeno circa l'86%, almeno circa l'87%, almeno circa l'88%, almeno circa l'89%, almeno circa il 90%, almeno circa il 91%, almeno circa il 92%, almeno circa il 93%, almeno circa il 94%, almeno circa il 95%, almeno circa il 96%, almeno circa il 97%, almeno circa il 98%, almeno circa il 99%, almeno circa il 99,9%, o il 100% di omologia di sequenza con la sequenza di acido nucleico di ID di SEQ n. 40, e in

cui l'acido nucleico è fiancheggiato da ripetizioni terminali invertite (ITR) di AAV2. In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono un acido nucleico comprendente la sequenza di acido nucleico di ID di SEQ n. 40. In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono un acido nucleico comprendente la sequenza di acido nucleico di ID di SEQ n. 40, e in cui l'acido nucleico è fiancheggiato da ripetizioni terminali invertite (ITR) di AAV2.

```
atggtgtcactactgggatactggagtccttgctttgtgccctgctgtcctgcctcctcctgactggctccag
ctcgggctcagataccggtcgccttctcgtggagatgtactccgagatcccgaaattatccacatgactg
aggggcgcgaaacttgatgacccctgcccgggtcaccagcccgaacattactgtgactttgaagaagtcccc
ctggacaccctgattccggatgggaagagaattatctgggattcacggaagggattcatcatcagcaacgc
gacctacaaggaaattggcctcctcacttgcgaaagccactgtgaacggacacttgtaacaagaccaactacc
tgaccaccgcccagaccaacaccatcatcgacgtcgtcctgtccccttcgcacgggatcgagctctcggtg
ggagagaagtgggtgcttaactgcaccgcccggacggaactgaatgtgggaatcgacttcaactgggaata
cccgtccagcaagcatcagcataagaagctgggtgaaccgggacctcaagactcagtcggcagcgaaatga
agaagtccctgtcgacctcactattgacggagtgaccagatccgaccagggcctctacacttgccgct
tccagcggactcatgaccaagaagaacagcactttcgtgagggtgcatgagaaggacaagaccacacgtg
tccgctgcccagcccagagctgctgggaggcccttccgtgttctgtttccgccaagccaaaggat
acctgatgatctcaaggaccctgaggtcacatgcgtcgtgggtggatgtgtcgcacgaggacctgaagt
caaatcaattggtatgtggacggagtggaaagtcacaacgcgaaaaccaagccgagagaagaacagtaca
attccacctaccgggtggtgtcgggtgctgactgtgctgcaccaggactggctcaacggaaaggagtacaag
tgcaaggtgtccaacaaggctctgcccgcacctattgaaaagaccatctccaaggccaagggtaacctcg
cgagcctcaggtgtacactctgcctccaagccgggacgaactgactaagaaccaagtctctctgacctgtt
tggtgaagggcttctaccgtcagacatcgagtgagtgagggtcaaacggtcagccggagaacaactac
aaaacaacccccccgtgctggactccgacggctccttcttctgtactccaagcttaccgtggataagag
ccgctggcaacagggcaacgtgttttctcgtcctcgtcatgcacgaagccctgcacaaccattatacccaga
agtccctgtcgtgtcccccggaatag (ID di SEQ n. 40)
```

In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono un acido nucleico codificante un polipeptide comprendente una sequenza di amminoacidi con qualsiasi tra almeno circa il 95%, almeno circa il 96%, almeno circa il 97%, almeno circa il 98%, almeno circa il 99%, o il 100% di identità con la sequenza

di amminoacidi di ID di SEQ n. 41 e fiancheggiato da ripetizioni terminali invertite (ITR) di AAV2. In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono un acido nucleico codificante un polipeptide comprendente una sequenza di amminoacidi con almeno circa il 95% di identità con la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 41 e fiancheggiato da ripetizioni terminali invertite (ITR) di AAV2. In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono un acido nucleico codificante un polipeptide comprendente la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 41 e fiancheggiato da ripetizioni terminali invertite (ITR) di AAV2. In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono un acido nucleico codificante un polipeptide comprendente la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 41.

```
MVSYWDTGVLLCALLSCLLLTGSSSGSDTGRPFVEMYSEIPEIIHMTEGRELVIPCRVTSFNITVTLKKFP
LDTLIPDGKRRIIWDSRKGFIISNATYKEIGLLTCEATVNGHLYKTNYLTHRQTNTIIDVVLSPSHGIELSV
GEKLVLNCTARTELVNVDGIDFNWEYPSSKHQHKLVNRDLKTQSGSEMKKFLSTLTIDGVTRSDQGLYTCAA
SSGLMTKKNSTFVRVHEKDKHTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR
EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (ID di SEQ n. 41)
```

In alcuni casi, la sequenza di acido nucleico di aflibercept è ottimizzata per codone per l'espressione in un primate o un soggetto umano. La costruzione di un gene sintetico corrispondente alla sequenza di amminoacidi di aflibercept è stata descritta in letteratura, ad es. Kanda A, Noda K, Saito W, Ishida S. Aflibercept Traps Galectin-1, an Angiogenic Factor Associated with Diabetic Retinopathy. *Scientific Reports* 5:17946 (2015) (che descrive "VEGF-Trap_{R1R2} (corresponding to aflibercept) cDNA was generated as a synthetic gene by IDT (Coralville, IA)"). Data la sequenza di amminoacidi disponibile di aflibercept, può essere usato qualsiasi metodo noto nell'arte per generare il

cDNA di aflibercept per l'uso in una terapia genica o un rAAV descritto nel presente contesto.

L'ottimizzazione dei codoni può essere conseguita con qualsiasi metodo noto nell'arte. L'ottimizzazione dei codoni si riferisce a un processo di modifica di una sequenza di acido nucleico per un'espressione potenziata di un gene nelle cellule bersaglio oppure ospiti di interesse, ad es. le cellule retiniche umane, rimpiazzando almeno un codone (ad es. circa o più di 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 50, 100 o più codoni) di una sequenza nativa con codoni che vengono usati più frequentemente o vengono usati più frequentemente in assoluto nella cellula ospite, mantenendo al contempo la sequenza nativa di amminoacidi. Le tabelle di utilizzo dei codoni sono prontamente disponibili, inclusi per esempio GenScript Codon Usage Frequency Table Tool all'indirizzo [www\(dot\)genscript\(dot\)com/tools/codon-frequency-table](http://www(dot)genscript(dot)com/tools/codon-frequency-table); database sull'utilizzo dei codoni all'indirizzo [www\(dot\)kazusa\(dot\)or\(dot\)jp/codon/](http://www(dot)kazusa(dot)or(dot)jp/codon/); e Nakamura, Y., et al. "Codon usage tabulated from the international DNA sequence databases: status for the year 2000" Nucl. Acids Res. 28:292 (2000).

L'omologia si riferisce alla conservazione percentuale di residui di un allineamento tra due sequenze, inclusi, ma non limitati a, frammenti funzionali, sequenze comprendenti inserzioni, delezioni, sostituzioni, pseudoframmenti, pseudogeni, varianti di splicing o sequenze ottimizzate artificialmente.

In alcuni casi, le particelle di rAAV comprendono un acido nucleico codificante aflibercept. In alcuni casi, il polipeptide è aflibercept.

Come usato nel presente contesto, "aflibercept" si riferisce a una sequenza polipeptidica o proteica, o a un frammento funzionale o variante o

mutante di essa, con qualsiasi tra almeno il 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o più, o il 100% di omologia con la sequenza di amminoacidi di aflibercept identificata sopra (ID di SEQ n. 35). L'omologia si riferisce alla conservazione percentuale di residui di un allineamento tra due sequenze, inclusi, ma non limitati a, frammenti funzionali, sequenze comprendenti inserzioni, delezioni, sostituzioni, pseudoframmenti, pseudogeni, varianti di splicing o sequenze ottimizzate artificialmente.

In alcuni casi, la sequenza di amminoacidi di aflibercept è qualsiasi tra almeno il 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,9%, o 100% omologa con la sequenza di amminoacidi di aflibercept di ID di SEQ n. 35. In alcuni casi, la sequenza di acido nucleico che codifica aflibercept divulgata nel presente contesto è confrontata con la corrispondente sequenza di cDNA della sequenza di amminoacidi di aflibercept identificata sopra, e mostra qualsiasi tra almeno il 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,9%, o 100% di omologia di sequenza tra le sequenze di acido nucleico di aflibercept (ad es. ID di SEQ n. 36). In alcuni casi, aflibercept è qualsiasi tra almeno l'80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,9%, o il 100% spazialmente omologo ad aflibercept (ad es. in termini della sua struttura o conformazione secondaria, terziaria e quaternaria). In alcuni casi, aflibercept è qualsiasi tra al massimo l'80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,9% o il 100% spazialmente omologo all'aflibercept usato nello standard di cura (ad es. struttura o conformazione secondaria, terziaria e quaternaria).

In alcuni casi, il prodotto genico di aflibercept, o transgene di aflibercept, come incluso in una terapia genica basata su un rAAV, comprende una variante di capside come divulgato nel presente contesto (ad es. la variante 7m8), codifica una proteina, proteina di fusione o polipeptide che ha qualsiasi tra almeno il 75%, almeno l'80%, almeno l'81%, almeno l'82%, almeno l'83%, almeno l'84%, almeno l'85%, almeno l'86%, almeno l'87%, almeno l'88%, almeno l'89%, almeno il 90%, almeno il 91%, almeno il 92%, almeno il 93%, almeno il 94%, almeno il 95%, almeno il 96%, almeno il 97%, almeno il 98%, almeno il 99%, o almeno il 100% di omologia con la sequenza di amminoacidi di cui sopra di ID di SEQ n. 35, o tra le sequenze di cDNA corrispondenti di aflibercept (ad es. cDNA della sequenza di aflibercept usata in una terapia genica in confronto a ID di SEQ n. 36). In alcuni casi, i metodi le composizioni divulgati nel presente contesto comprendono un frammento funzionale di aflibercept, o una variante o mutante di esso. In alcuni casi, la sequenza di acido nucleico di aflibercept viene modificata o ottimizzata per i codoni per potenziare la sua attività, espressione, stabilità e/o solubilità in vivo.

Aflibercept è una proteina di fusione da 115 kDa, che può essere glicosilata. Aflibercept comprende una catena principale di IgG fusa alle sequenze del recettore VEGF extracellulare del VEGFR-1 e VEGFR-2 umani, e funziona come un recettore esca solubile legando VEGF-A con un'affinità maggiore rispetto ai suoi recettori naturali o endogeni. Si veda, per esempio, Stewart MW. Aflibercept (VEGF Trap-eye): the newest anti-VEGF drug. *Br. J. Ophthalmol. Sett.* 2012;96(9):1157-8. L'alta affinità di aflibercept per VEGF interferisce o interrompe il susseguente legame e l'attivazione dei recettori VEGF nativi o endogeni. Una ridotta attività di VEGF può portare ad

angiogenesi e permeabilità vascolare diminuite. L'inibizione del fattore di crescita placentare PIGF e VEGF-B da parte di aflibercept può anche contribuire al trattamento di malattie o disturbi oculari caratterizzati da angiogenesi anomala (ad es. eccessiva) e/o neovascolarizzazione. Il PIGF è stato associato all'angiogenesi e certe malattie o disturbi oculari, come la DMLE umida, possono essere associati a livelli elevati di PIGF. La sovraespressione di VEGF-B può essere associata alla rottura della barriera emato-retinica e all'angiogenesi retinica. Dunque, l'inibizione di tutti, VEGF-A, VEGF-B e PIGF, può contribuire all'efficacia di aflibercept.

Metodi per una preparazione di vettori per erogare transgeni a cellule bersaglio

In alcuni casi, le particelle di rAAV sono fabbricate usando qualsiasi metodo noto nell'arte. In alcuni casi, le particelle di rAAV sono fabbricate usando un sistema di vettore di espressione di baculovirus in cellule Sf9. Le cellule Sf9 sono una linea cellulare di coltura di cellule di insetto comunemente usata per la produzione di proteine ricombinanti usando baculovirus. In alcuni casi, le particelle di rAAV sono fabbricate usando due baculovirus in cellule Sf9. In alcuni casi, le particelle di rAAV sono fabbricate usando due baculovirus in cellule Sf9, in cui un primo baculovirus codifica i geni per le proteine AAV2 Rep e AAV2.7m8 Cap e un secondo baculovirus codifica un agente anti-VEGF. In alcuni casi, le particelle di rAAV sono fabbricate usando due baculovirus in cellule Sf9, in cui un primo baculovirus codifica i geni per le proteine AAV2 Rep e AAV2.7m8 Cap e un secondo baculovirus codifica una cassetta di espressione del cDNA di aflibercept (ad es. aflibercept umano). In alcuni casi, le particelle di rAAV sono fabbricate usando due baculovirus in cellule Sf9, in cui

un primo baculovirus codifica i geni per le proteine AAV2 Rep e AAV2.7m8 Cap e un secondo baculovirus comprende un acido nucleico che codifica un polipeptide comprendente una sequenza di amminoacidi con almeno circa il 95% di identità con la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 35 e fiancheggiato da ripetizioni terminali invertite (ITR) di AAV2. In alcuni casi, il polipeptide comprende la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 35. In alcuni casi, il polipeptide è aflibercept.

Dosi

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è somministrata a un occhio dell'individuo. In alcuni casi, l'occhio dell'individuo è l'occhio destro o l'occhio sinistro. In alcuni casi, l'occhio dell'individuo è l'occhio destro. In alcuni casi, l'occhio dell'individuo è l'occhio sinistro. In alcuni casi, i metodi descritti nel presente contesto comprendono inoltre somministrare una dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio controlaterale dell'individuo. In alcuni casi, l'occhio dell'individuo è l'occhio destro e l'occhio controlaterale è l'occhio sinistro. In alcuni casi, l'occhio dell'individuo è l'occhio sinistro e l'occhio controlaterale è l'occhio destro.

In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio controlaterale è almeno circa 2 settimane (ad es. almeno circa 2 settimane, almeno circa 3 settimane, almeno circa 4 settimane, almeno circa 1 mese, almeno circa 2 mesi, almeno circa 3 mesi, almeno circa 4 mesi, almeno circa 5 mesi, almeno circa 6 mesi, almeno circa 7 mesi, almeno circa 8 mesi, almeno circa 9 mesi, almeno circa 10 mesi, almeno circa 11 mesi, almeno circa 12 mesi, almeno circa 1 anno, almeno circa 2 anni, almeno circa 3 anni, almeno circa 4 anni, almeno circa 5 anni, o più) dopo avere somministrato la dose

unitaria di particelle di rAAV all'occhio. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio controlaterale è almeno circa 2 settimane dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e la dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio controlaterale dell'individuo è più alta (ad es. qualsiasi tra circa il 5%, circa il 10%, circa il 20%, circa il 30%, circa il 40%, circa il 50%, circa il 60%, circa il 70%, circa l'80%, circa il 90%, circa il 100%, circa il 125%, circa il 150%, circa il 175%, circa il 200%, circa il 225%, circa il 250%, circa il 275%, circa il 300%, o più, più alta) della dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio dell'individuo.

In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio controlaterale dell'individuo è fino a circa 1 settimana, fino a circa 2 settimane, fino a circa 3 settimane, o fino a circa 4 settimane dopo avere somministrato la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio controlaterale dell'individuo è fino a circa 2 settimane (ad es. circa 0 giorni, 1 giorno, 2 giorni, 3 giorni, 4 giorni, 5 giorni, 6 giorni, 7 giorni, 8 giorni, 9 giorni, 10 giorni, 11 giorni, 12 giorni, 13 giorni, o 14 giorni) dopo avere somministrato la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio controlaterale dell'individuo è fino a circa 2 settimane (ad es. circa 0 giorni, 1 giorno, 2 giorni, 3 giorni, 4 giorni, 5 giorni, 6 giorni, 7 giorni, 8 giorni, 9 giorni, 10 giorni, 11 giorni, 12 giorni, 13 giorni, o 14 giorni) dopo avere somministrato la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e la dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio controlaterale dell'individuo è circa la stessa (ad es. meno dell'1% più alta o più bassa, meno del 5% più alta o più bassa, meno del 10% più alta o più bassa, o meno del

20% più alta o più bassa), o più bassa (ad es. circa il 5%, circa il 10%, circa il 20%, circa il 30%, circa il 40%, circa il 50%, circa il 60%, circa il 70%, circa l'80%, o circa il 90% più bassa) della dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio dell'individuo. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio controlaterale dell'individuo è fino a circa 2 settimane dopo avere somministrato la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e la dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio controlaterale dell'individuo è circa la stessa (ad es. meno dell'1% più alta o più bassa, meno del 5% più alta o più bassa, meno del 10% più alta o più bassa, o meno del 20% più alta o più bassa) della dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio dell'individuo. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio controlaterale dell'individuo è fino a circa 2 settimane dopo avere somministrato la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e la dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio controlaterale dell'individuo è più bassa (ad es. circa il 5%, circa il 10%, circa il 20%, circa il 30%, circa il 40%, circa il 50%, circa il 60%, circa il 70%, circa l'80%, o circa il 90% più bassa) della dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio dell'individuo.

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è somministrata all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è espressa come numero di genomi di vettore (vg). In alcuni casi, la dose unitaria è circa 6×10^{11} genomi di vettore (vg) o meno delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è ai circa 1×10^{10} a circa 2×10^{10} , tra circa 2×10^{10} e circa 3×10^{10} , tra circa 3×10^{10} e circa 4×10^{10} , tra circa 4×10^{10} e circa 5×10^{10} , tra circa 5×10^{10} e circa 6×10^{10} , tra circa 6×10^{10} e circa

7×10^{10} , tra circa 7×10^{10} e circa 8×10^{10} , tra circa 8×10^{10} e circa 9×10^{10} , tra circa 9×10^{10} e circa 10×10^{10} , tra circa 1×10^{11} e circa 2×10^{11} , tra circa 2×10^{11} e circa 3×10^{11} , tra circa 3×10^{11} e circa 4×10^{11} , tra circa 4×10^{11} e circa 5×10^{11} , o tra circa 5×10^{11} e circa 6×10^{11} vg delle particelle di rAAV, incluso qualsiasi valore all'interno di questi intervalli, delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è da circa 6×10^{10} genomi di vettore (vg) a circa 2×10^{11} vg delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è da circa 6×10^{10} vg a circa 2×10^{11} vg, da circa 7×10^{10} vg a circa 2×10^{11} vg, da circa 8×10^{10} vg a circa 2×10^{11} vg, da circa 9×10^{10} vg a circa 2×10^{11} vg, da circa 10×10^{10} vg a circa 2×10^{11} vg, o da circa 1×10^{11} vg a circa 2×10^{11} vg delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è da circa 6×10^{10} vg a circa 2×10^{11} vg delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è da circa 6×10^{10} vg a circa 7×10^{10} vg, da circa 7×10^{10} vg a circa 8×10^{10} vg, da circa 8×10^{10} vg a circa 9×10^{10} vg, da circa 9×10^{10} vg a circa 10×10^{10} vg, da circa 10×10^{10} vg a circa 1×10^{11} vg, o da circa 1×10^{11} vg a circa 2×10^{11} vg delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è circa 6×10^{10} vg, circa 7×10^{10} vg, circa 8×10^{10} vg, circa 9×10^{10} vg, circa 10×10^{10} vg, circa 1×10^{11} vg o circa 2×10^{11} vg delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è di circa 6×10^{10} vg o circa 2×10^{11} vg delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è di circa 6×10^{10} vg delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è circa 6×10^{10} vg, circa 2×10^{11} vg, o circa 6×10^{11} vg. In alcuni casi, la dose unitaria è circa 6×10^{10} vg. In alcuni casi, la dose unitaria è circa 2×10^{11} vg. In alcuni casi, la dose unitaria è circa 6×10^{11} vg.

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è somministrata all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo. In alcuni casi, la dose

unitaria è espressa come numero di genomi di vettore (vg) per occhio (vg/occhio). In alcuni casi, la dose unitaria è circa 6×10^{11} vg/occhio o meno delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è da circa 1×10^{10} a circa 2×10^{10} , tra circa 2×10^{10} e circa 3×10^{10} , tra circa 3×10^{10} e circa 4×10^{10} , tra circa 4×10^{10} e circa 5×10^{10} , tra circa 5×10^{10} e circa 6×10^{10} , tra circa 6×10^{10} e circa 7×10^{10} , tra circa 7×10^{10} e circa 8×10^{10} , tra circa 8×10^{10} e circa 9×10^{10} , tra circa 9×10^{10} e circa 10×10^{10} , tra circa 1×10^{11} e circa 2×10^{11} , tra circa 2×10^{11} e circa 3×10^{11} , tra circa 3×10^{11} e circa 4×10^{11} , tra circa 4×10^{11} e circa 5×10^{11} , o tra circa 5×10^{11} e circa 6×10^{11} vg/occhio delle particelle di rAAV, incluso qualsiasi valore entro questi intervalli, delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è da circa 6×10^{10} vg/occhio a circa 2×10^{11} vg/occhio delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è da circa 6×10^{10} vg/occhio a circa 2×10^{11} vg/occhio, da circa 7×10^{10} vg/occhio a circa 2×10^{11} vg/occhio, da circa 8×10^{10} vg/occhio a circa 2×10^{11} vg/occhio, da circa 9×10^{10} vg/occhio a circa 2×10^{11} vg/occhio, da circa 10×10^{10} vg/occhio a circa 2×10^{11} vg/occhio, o da circa 1×10^{11} vg/occhio a circa 2×10^{11} vg/occhio delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è da circa 6×10^{10} vg/occhio a circa 2×10^{11} vg/occhio delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è da circa 6×10^{10} vg/occhio a circa 7×10^{10} vg/occhio, da circa 7×10^{10} vg/occhio a circa 8×10^{10} vg/occhio, da circa 8×10^{10} vg/occhio a circa 9×10^{10} vg/occhio, da circa 9×10^{10} vg/occhio a circa 10×10^{10} vg/occhio, da circa 10×10^{10} vg/occhio a circa 1×10^{11} vg/occhio, o da circa 1×10^{11} vg/occhio a circa 2×10^{11} vg/occhio delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è circa 6×10^{10} vg/occhio, circa 7×10^{10} vg/occhio, circa 8×10^{10} vg/occhio, circa 9×10^{10} vg/occhio, circa 10×10^{10} vg/occhio, circa 1×10^{11} vg/occhio, o circa 2×10^{11} vg/occhio delle

particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è di circa 6×10^{10} vg/occhio o di circa 2×10^{11} vg/occhio delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è di circa 6×10^{10} vg/occhio delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è di circa 6×10^{10} vg/occhio, circa 2×10^{11} vg/occhio, o circa 6×10^{11} vg/occhio. In alcuni casi, la dose unitaria è di circa 6×10^{10} vg/occhio. In alcuni casi, la dose unitaria è di circa 2×10^{11} vg/occhio. In alcuni casi, la dose unitaria è circa 6×10^{11} vg/occhio.

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è somministrata all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo. In alcuni casi, E è una forma abbreviata per la base 10 nell'elevamento a potenza, e xEy si riferisce a x moltiplicato per la base 10 elevata alla potenza/esponente y. In alcuni casi, la dose unitaria è espressa come numero di genomi di vettore (vg). In alcuni casi, la dose unitaria è circa $6E^{11}$ genomi di vettore (vg) o meno delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è da circa $1E^{10}$ a circa $2E^{10}$, tra circa $2E^{10}$ e circa $3E^{10}$, tra circa $3E^{10}$ e circa $4E^{10}$, tra circa $4E^{10}$ e circa $5E^{10}$, tra circa $5E^{10}$ e circa $6E^{10}$, tra circa $6E^{10}$ e circa $7E^{10}$, tra circa $7E^{10}$ e circa $8E^{10}$, tra circa $8E^{10}$ e circa $9E^{10}$, tra circa $9E^{10}$ e circa $10E^{10}$, tra circa $1E^{11}$ e circa $2E^{11}$, tra circa $2E^{11}$ e circa $3E^{11}$, tra circa $3E^{11}$ e circa $4E^{11}$, tra circa $4E^{11}$ e circa $5E^{11}$, o tra circa $5E^{11}$ e circa $6E^{11}$ vg delle particelle di rAAV, incluso qualsiasi valore entro questi intervalli, delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è da circa $6E^{10}$ genomi di vettore (vg) a circa $2E^{11}$ vg delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è da circa $6E^{10}$ vg a circa $2E^{11}$ vg, da circa $7E^{10}$ vg a circa $2E^{11}$ vg, da circa $8E^{10}$ vg a circa $2E^{11}$ vg, da circa $9E^{10}$ vg a circa $2E^{11}$ vg, da circa $10E^{10}$ vg a circa $2E^{11}$ vg, o da circa $1E^{11}$ vg a circa $2E^{11}$ vg delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è da circa $6E^{10}$ vg a circa $2E^{11}$

vg delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è da circa $6E^{10}$ vg a circa $7E^{10}$ vg, da circa $7E^{10}$ vg a circa $8E^{10}$ vg, da circa $8E^{10}$ vg a circa $9E^{10}$ vg, da circa $9E^{10}$ vg a circa $10E^{10}$ vg, da circa $10E^{10}$ vg a circa $1E^{11}$ vg, o da circa $1E^{11}$ vg a circa $2E^{11}$ vg delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è circa $6E^{10}$ vg, circa $7E^{10}$ vg, circa $8E^{10}$ vg, circa $9E^{10}$ vg, circa $10E^{10}$ vg, circa $1E^{11}$ vg, o circa $2E^{11}$ vg delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è circa $6E^{10}$ vg o circa $2E^{11}$ vg delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è di circa $6E^{10}$ vg delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è circa $6E^{10}$ vg, circa $2E^{11}$ vg, o circa $6E^{11}$ vg. In alcuni casi, la dose unitaria è di circa $6E^{10}$ vg. In alcuni casi, la dose unitaria è di circa $2E^{11}$ vg. In alcuni casi, la dose unitaria è di circa $6E^{11}$ vg.

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è somministrata all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo. In alcuni casi, la dose unitaria è espressa come numero di genomi di vettore (vg) per occhio (vg/occhio). In alcuni casi, la dose unitaria è circa $6E^{11}$ vg/occhio o meno delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è da circa $1E^{10}$ a circa $2E^{10}$, tra circa $2E^{10}$ e circa $3E^{10}$, tra circa $3E^{10}$ e circa $4E^{10}$, tra circa $4E^{10}$ e circa $5E^{10}$, tra circa $5E^{10}$ e circa $6E^{10}$, tra circa $6E^{10}$ e circa $7E^{10}$, tra circa $7E^{10}$ e circa $8E^{10}$, tra circa $8E^{10}$ e circa $9E^{10}$, tra circa $9E^{10}$ e circa $10E^{10}$, tra circa $1E^{11}$ e circa $2E^{11}$, tra circa $2E^{11}$ e circa $3E^{11}$, tra circa $3E^{11}$ e circa $4E^{11}$, tra circa $4E^{11}$ e circa $5E^{11}$, o tra circa $5E^{11}$ e circa $6E^{11}$ vg/occhio delle particelle di rAAV, incluso qualsiasi valore entro questi intervalli, delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è da circa $6E^{10}$ vg/occhio a circa $2E^{11}$ vg/occhio delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è da circa $6E^{10}$ vg/occhio a circa $2E^{11}$ vg/occhio, da circa $7E^{10}$ vg/occhio a circa $2E^{11}$ vg/occhio, da circa $8E^{10}$ vg/occhio a circa

2E¹¹ vg/occhio, da circa 9E¹⁰ vg/occhio a circa 2E¹¹ vg/occhio, da circa 10E¹⁰ vg/occhio a circa 2E¹¹ vg/occhio, o da circa 1E¹¹ vg/occhio a circa 2E¹¹ vg/occhio delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è da circa 6E¹⁰ vg/occhio a circa 2E¹¹ vg/occhio delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è da circa 6E¹⁰ vg/occhio a circa 7E¹⁰ vg/occhio, da circa 7E¹⁰ vg/occhio a circa 8E¹⁰ vg/occhio, da circa 8E¹⁰ vg/occhio a circa 9E¹⁰ vg/occhio, da circa 9E¹⁰ vg/occhio a circa 10E¹⁰ vg/occhio, da circa 10E¹⁰ vg/occhio a circa 1E¹¹ vg/occhio, o da circa 1E¹¹ vg/occhio a circa 2E¹¹ vg/occhio delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è circa 6E¹⁰ vg/occhio, circa 7E¹⁰ vg/occhio, circa 8E¹⁰ vg/occhio, circa 9E¹⁰ vg/occhio, circa 10E¹⁰ vg/occhio, circa 1E¹¹ vg/occhio, o circa 2E¹¹ vg/occhio delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è circa 6E¹⁰ vg/occhio o circa 2E¹¹ vg/occhio delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è circa 6E¹⁰ vg/occhio delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria è circa 6E¹⁰ vg/occhio, circa 2E¹¹ vg/occhio, o circa 6E¹¹ vg/occhio. In alcuni casi, la dose unitaria è circa 6E¹⁰ vg/occhio. In alcuni casi, la dose unitaria è circa 2E¹¹ vg/occhio. In alcuni casi, la dose unitaria è circa 6E¹¹ vg/occhio.

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è somministrata all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose unitaria sufficiente a provocare espressione della proteina terapeutica (ad es. un agente anti-VEGF come aflibercept) nell'umor vitreo. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose unitaria sufficiente a conseguire una concentrazione della proteina terapeutica (ad es. un agente anti-VEGF come aflibercept) a circa uno qualsiasi tra 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5, 10 µg/ml, o più, incluso

qualsiasi range tra questi valori, nell'umor vitreo. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose unitaria sufficiente a provocare espressione di aflibercept nell'umor vitreo. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose unitaria sufficiente a conseguire una concentrazione di aflibercept a circa uno qualsiasi tra 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5, 10 µg/ml, o più, incluso qualsiasi range tra questi valori, nell'umor vitreo.

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo è una dose unitaria sufficiente a provocare espressione della proteina terapeutica (ad es. un agente anti-VEGF come aflibercept) nell'umor acqueo. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose unitaria sufficiente a conseguire una concentrazione della proteina terapeutica (ad es. un agente anti-VEGF come aflibercept) di almeno circa 0,5, 0,55, 0,6, 0,65, 0,7, 0,75, 0,8, 0,85, 0,9, 0,95, 1,0 µg/ml, o più, incluso qualsiasi range tra questi valori, nell'umor acqueo. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose unitaria sufficiente a provocare espressione di aflibercept nell'umor acqueo. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose unitaria sufficiente a conseguire una concentrazione di aflibercept di almeno circa 0,5, 0,55, 0,6, 0,65, 0,7, 0,75, 0,8, 0,85, 0,9, 0,95, 1,0 µg/ml, o più, incluso qualsiasi range tra questi valori, nell'umor acqueo.

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è somministrata all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose unitaria sufficiente a provocare un'espressione della proteina terapeutica (ad es. un agente anti-VEGF come aflibercept) nella retina. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è

una dose unitaria sufficiente a conseguire una concentrazione della proteina terapeutica (ad es. un agente anti-VEGF come aflibercept) di almeno circa 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5, 10 µg/g, o più, incluso qualsiasi range tra questi valori, nella retina. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose unitaria sufficiente a provocare un'espressione di aflibercept nella retina. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose unitaria sufficiente a conseguire una concentrazione di aflibercept di almeno circa 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5, 10 µg/g, o più, incluso qualsiasi range tra questi valori, nella retina.

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è somministrata all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose unitaria sufficiente a provocare un'espressione della proteina terapeutica (ad es. un agente anti-VEGF come aflibercept) nella coroide. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose unitaria sufficiente a conseguire una concentrazione della proteina terapeutica (ad es. un agente anti-VEGF come aflibercept) a circa uno qualsiasi tra 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5, 10 µg/g, o più, incluso qualsiasi range tra questi valori, nella coroide. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose unitaria sufficiente a provocare un'espressione di aflibercept nella coroide. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose unitaria sufficiente a conseguire una concentrazione di aflibercept a circa uno qualsiasi tra 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5, 10 µg/g, o più, incluso qualsiasi range tra questi valori, nella coroide.

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è somministrata all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace.

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se la dose unitaria è sufficiente a provocare mantenimento o una diminuzione di spessore retinico in confronto allo spessore retinico precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se la dose unitaria è sufficiente a provocare una diminuzione di spessore retinico in confronto allo spessore retinico precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, lo spessore retinico è lo spessore del sottocampo centrale (CST) o lo spessore retinico centrale (CRT). In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se la dose unitaria è sufficiente a provocare una diminuzione di spessore retinico di più di qualsiasi tra circa il 5%, circa il 10%, circa il 15%, circa il 20%, circa il 25%, circa il 30%, circa il 35%, circa il 40%, circa il 45%, circa il 50%, circa il 55%, circa il 60%, circa il 65%, circa il 70%, circa il 75%, circa l'80%, circa l'85%, circa il 90%, circa il 95%, circa il 99%, o circa il 100% in confronto allo spessore retinico precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, lo spessore retinico (ad es. CST o CRT) è determinato mediante OCT o SD-OCT.

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se la dose unitaria è sufficiente a provocare mantenimento o una diminuzione di volume maculare in confronto al volume

maculare antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se la dose unitaria è sufficiente a provocare una diminuzione di volume maculare in confronto al volume maculare antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se la dose unitaria è sufficiente a provocare una diminuzione di volume maculare di più di qualsiasi tra circa il 5%, circa il 10%, circa il 15%, circa il 20%, circa il 25%, circa il 30%, circa il 35%, circa il 40%, circa il 45%, circa il 50%, circa il 55%, circa il 60%, o circa il 65% in confronto al volume maculare antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, il volume maculare è determinato mediante OCT o SD-OCT.

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se la dose unitaria è sufficiente a provocare un mantenimento o un miglioramento di acuità visiva in confronto all'acuità visiva antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se la dose unitaria è sufficiente a provocare un miglioramento di acuità visiva in confronto all'acuità visiva antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se la dose unitaria è sufficiente a provocare un miglioramento di acuità visiva di più di qualsiasi tra circa il 5%, circa il 10%, circa il 20%, circa il 30%, circa il 40%, circa il 50%, circa il 60%, circa il 70%, circa l'80%, circa il 90%, circa il 100%,

circa il 125%, circa il 150%, circa il 175%, circa il 200%, circa il 225%, circa il 250%, circa il 275%, circa il 300%, o più in confronto all'acuità visiva antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'acuità visiva è la migliore acuità visiva corretta (BCVA). In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se la dose unitaria è sufficiente a provocare un miglioramento di BCVA in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, la BCVA è espressa come punteggio ETDRS, che corrisponde al numero di lettere lette correttamente (Vitale et al., (2016) JAMA Ophthalmol 134(9):1041:1047). In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se la dose unitaria è sufficiente a provocare un miglioramento di BCVA di almeno 15 lettere ETDRS (Vitale et al., (2016) JAMA Ophthalmol 134(9):1041:1047) (ad es. almeno circa 15, almeno circa 20, almeno circa 30, almeno circa 40, almeno circa 50, almeno circa 60, o circa 70 lettere) in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se la dose unitaria è sufficiente a provocare un mantenimento di BCVA, in cui l'individuo perde meno di 15 lettere ETDRS (Vitale et al., (2016) JAMA Ophthalmol 134(9):1041:1047) (ad es. 15 o meno, 14 o meno, 13 o meno, 12 o meno, 11 o meno, 10 o meno, 9 o meno, 8 o meno, 7 o meno, 6 o meno, 5 o meno, 4 o meno, 3 o meno, 2 o meno, 1, o 0 lettere) in confronto alla BCVA antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV.

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se, dopo una somministrazione della dose unitaria di

particelle di rAAV, è determinato che l'individuo ha un mantenimento della vista. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se, dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV, è determinato che l'individuo ha un miglioramento della vista. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se, dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV, il CST o CRT accertato mediante SD-OCT è diminuito in confronto ad antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se, dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV, il CST o CRT accertato mediante SD-OCT è mantenuto in confronto ad antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV.

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se, dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV, il volume maculare è diminuito in confronto ad antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se, dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV, il volume maculare è mantenuto in confronto ad antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV.

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se, dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV, lo spessore retinico (ad es. spessore retinico centrale (CRT)

o spessore del sottocampo centrale (CST)) e volume maculare sono diminuiti in confronto ad antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se, dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV, lo spessore retinico (ad es. spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST)) e volume maculare sono mantenuti in confronto ad antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV.

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se, dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV, l'individuo richiede meno di un trattamento di terapia di salvataggio (ad es. iniezione di aflibercept) a circa qualsiasi tra ogni 4 settimane, ogni 5 settimane, ogni 6 settimane, ogni 7 settimane, ogni 8 settimane, ogni 9 settimane, ogni 10 settimane, o più dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se, dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV, l'individuo non richiede alcun trattamento di terapia di salvataggio (ad es. iniezione di aflibercept) per almeno circa qualsiasi tra 1 settimana, almeno 2 settimane, almeno 3 settimane, almeno 4 settimane, almeno 5 settimane, almeno 6 settimane, almeno 7 settimane, almeno 8 settimane, almeno 9 settimane, almeno 10 settimane, almeno 15 settimane, almeno 20 settimane, almeno 30 settimane, almeno 40 settimane, almeno 50 settimane, almeno 60 settimane, almeno 70 settimane, almeno 80 settimane, almeno 90 settimane, almeno 100 settimane, almeno 110 settimane, o più.

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se, dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV, è determinato che l'individuo ha una riduzione di fluido retinico in confronto al livello di fluido retinico antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se, dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV, è determinato che l'individuo ha mantenimento di fluido retinico in confronto al livello di fluido retinico antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se, dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV, è determinato che l'individuo ha una riduzione di IRF e/o SRF nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale in confronto ai livelli di IRF e/o SRF antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale.

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se, dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV, è determinato che l'individuo ha una risoluzione del distacco dell'epitelio pigmentato (PED) in confronto al PED antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale.

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se, dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV, le lesioni CNV si restringono in confronto a lesioni CNV

presenti antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se, dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV, le lesioni CNV si restringono di più di qualsiasi tra circa il 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, o 100% in confronto a lesioni CNV presenti antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se, dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV, le lesioni CNV non crescono in confronto a lesioni CNV presenti antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se, dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV, le lesioni CNV non crescono di più di qualsiasi tra circa l'1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15% o 20% in confronto a lesioni CNV presenti antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale.

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se, dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV, è determinato che l'individuo ha un miglioramento di peculiarità anatomiche dell'occhio e/o dell'occhio controlaterale in confronto alle peculiarità anatomiche antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è una dose terapeuticamente efficace se, dopo una somministrazione della

dose unitaria di particelle di rAAV, è determinato che l'individuo ha una stabilizzazione e/o mantenimento delle peculiarità anatomiche dell'occhio e/o dell'occhio controlaterale in confronto alle peculiarità anatomiche antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV.

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è terapeuticamente efficace se una somministrazione della dose all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo riduce, arresta o previene almeno un sintomo della malattia o disturbo neovascolare oculare. Nei casi di malattie o disturbi neovascolari oculari caratterizzati da angiogenesi anomala (ad es. eccessiva), tali sintomi includono, ma non sono limitati a, ad es., distorsioni visive (quali compromissione della vista dei colori, vista offuscata, deterioramento della vista centrale) e perdita della vista. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo è una dose terapeuticamente efficace se una somministrazione della dose unitaria all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato il mantenimento, risoluzione parziale, o risoluzione completa di una o più peculiarità cliniche della malattia neovascolare oculare. Per esempio, la dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo è terapeuticamente efficace se una somministrazione della dose all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una risoluzione completa, risoluzione parziale o mantenimento della malattia neovascolare oculare come misurato mediante qualsiasi metodo noto nell'arte. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo è

terapeuticamente efficace se una somministrazione della dose all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una risoluzione completa, risoluzione parziale o mantenimento della malattia neovascolare oculare come accertato mediante la migliore acuità visiva corretta (BCVA) (ad es. sulla base di un punteggio ETDRS; Vitale et al., (2016) JAMA Ophthalmol 134(9):1041:1047), dallo spessore retinico centrale come determinato mediante SD-OCT, dal numero di trattamenti di terapia di salvataggio (ad es. iniezioni di aflibercept) richiesti dall'individuo dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale, dalla presenza di fluido intraretinico (IRF) e/o fluido sottoretinico (SRF), dalla risoluzione del distacco dell'epitelio pigmentato (PED), dalla crescita della lesione da neovascolarizzazione coroideale (CNV), dalle peculiarità anatomiche in base a qualsiasi metodo noto nell'arte (ad es. SD-OCT, OCT, angiografia con fluoresceina, fotografia digitale a colori del fundus, ecc.). In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo è therapeuticamente efficace se una somministrazione della dose all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato una risoluzione completa, risoluzione parziale o mantenimento della malattia neovascolare oculare come accertato mediante esame oftalmologico, pressione intraoculare (ad es. usando un tonometro ad appianazione di Goldmann o Tono-pen), oftalmoscopia indiretta, esame dell'occhio e/o dell'occhio controlaterale e degli annessi, responsività della palpebra e/o della pupilla, blefaroptosi, sagoma anomala della pupilla, pupille disuguali, reazione anomala alla luce, difetti pupillari afferenti, esame con lampada a fessura (incluso delle palpebre, congiuntiva, cornea, cristallino, iride

e camera anteriore), anomalie del segmento posteriore del vitreo, nervo ottico, retina periferica e vascolarizzazione retinica, SD-OCT, angiografia con fluoresceina, fotografia digitale a colori del fundus (incluse immagini della retina, disco ottico e/o macula), campionamento dell'umor acqueo, campionamento dell'umor vitreo, OCT-angiografia (OCT-A), rifrazione e acuità visiva (BCVA).

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio dell'individuo è la stessa della dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio controlaterale dell'individuo. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio dell'individuo è differente dalla dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio controlaterale dell'individuo. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio dell'individuo è più alta, ad es., più di qualsiasi tra circa il 10%, circa il 20%, circa il 30%, circa il 40%, circa il 50%, circa il 60%, circa il 70%, circa l'80%, circa il 90%, circa il 100%, circa il 125%, circa il 150%, circa il 175%, circa il 200%, circa il 225%, circa il 250%, circa il 275%, circa il 300% o più, della dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio controlaterale dell'individuo. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio controlaterale dell'individuo è più alta, ad es., più di qualsiasi tra circa il 10%, circa il 20%, circa il 30%, circa il 40%, circa il 50%, circa il 60%, circa il 70%, circa l'80%, circa il 90%, circa il 100%, circa il 125%, circa il 150%, circa il 175%, circa il 200%, circa il 225%, circa il 250%, circa il 275%, circa il 300% o più, della dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio dell'individuo. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è espressa come numero di genomi di vettore (vg) per occhio (vg/occhio). In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è di circa 6×10^{11} vg/occhio o meno di

particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è da circa 1×10^{10} a circa 2×10^{10} , tra circa 2×10^{10} e circa 3×10^{10} , tra circa 3×10^{10} e circa 4×10^{10} , tra circa 4×10^{10} e circa 5×10^{10} , tra circa 5×10^{10} e circa 6×10^{10} , tra circa 6×10^{10} e circa 7×10^{10} , tra circa 7×10^{10} e circa 8×10^{10} , tra circa 8×10^{10} e circa 9×10^{10} , tra circa 9×10^{10} e circa 10×10^{10} , tra circa 1×10^{11} e circa 2×10^{11} , tra circa 2×10^{11} e circa 3×10^{11} , tra circa 3×10^{11} e circa 4×10^{11} , tra circa 4×10^{11} e circa 5×10^{11} , o tra circa 5×10^{11} e circa 6×10^{11} vg/occhio delle particelle di rAAV, incluso qualsiasi valore all'interno di questi intervalli, delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è da circa 6×10^{10} vg/occhio a circa 2×10^{11} vg/occhio delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è da circa 6×10^{10} vg/occhio a circa 2×10^{11} vg/occhio, da circa 7×10^{10} vg/occhio a circa 2×10^{11} vg/occhio, da circa 8×10^{10} vg/occhio a circa 2×10^{11} vg/occhio, da circa 9×10^{10} vg/occhio a circa 2×10^{11} vg/occhio, da circa 10×10^{10} vg/occhio a circa 2×10^{11} vg/occhio, o da circa 1×10^{11} vg/occhio a circa 2×10^{11} vg/occhio delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è da circa 6×10^{10} vg/occhio a circa 2×10^{11} vg/occhio delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è da circa 6×10^{10} vg/occhio a circa 7×10^{10} vg/occhio, da circa 7×10^{10} vg/occhio a circa 8×10^{10} vg/occhio, da circa 8×10^{10} vg/occhio a circa 9×10^{10} vg/occhio, da circa 9×10^{10} vg/occhio a circa 10×10^{10} vg/occhio, da circa 10×10^{10} vg/occhio a circa 1×10^{11} vg/occhio, o da circa 1×10^{11} vg/occhio a circa 2×10^{11} vg/occhio delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è di circa 6×10^{10} vg/occhio, circa 7×10^{10} vg/occhio, circa 8×10^{10} vg/occhio, circa 9×10^{10} vg/occhio, circa 10×10^{10} vg/occhio, circa 1×10^{11} vg/occhio, o circa 2×10^{11} vg/occhio delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria di

particelle di rAAV è circa 6×10^{10} vg/occhio o circa 2×10^{11} vg/occhio delle particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è di circa 6×10^{10} vg/occhio di particelle di rAAV. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è di circa 6×10^{10} vg/occhio, circa 2×10^{11} vg/occhio, o circa 6×10^{11} vg/occhio. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è di circa 6×10^{10} vg/occhio. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è di circa 2×10^{11} vg/occhio. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è di circa 6×10^{11} vg/occhio.

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio dell'individuo e la dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio controlaterale dell'individuo sono somministrate allo stesso tempo. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio dell'individuo e la dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio controlaterale dell'individuo sono somministrate in tempi differenti. In alcuni casi, la dose unitaria somministrata all'occhio controlaterale è somministrata a qualsiasi tra almeno circa 1 ora, almeno circa 2 ore, almeno circa 4 ore, almeno circa 8 ore, almeno circa 12 ore, almeno circa 24 ore, almeno circa 1 giorno, almeno circa 2 giorni, almeno circa 3 giorni, almeno circa 4 giorni, almeno circa 5 giorni, almeno circa 6 giorni, almeno circa 7 giorni, almeno circa 1 settimana, almeno circa 2 settimane, almeno circa 3 settimane, almeno circa 4 settimane, o più dopo avere somministrato la dose unitaria all'occhio. In alcuni casi, la dose unitaria somministrata all'occhio controlaterale è somministrata almeno circa 2 settimane dopo avere somministrato la dose unitaria all'occhio.

In alcuni casi, una singola dose unitaria di particelle di rAAV è somministrata all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo. In alcuni

casi, la singola dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio e/o all'occhio controlaterale è una dose terapeuticamente efficace. In alcuni casi, più di una dose di particelle di rAAV (ad es. più di qualsiasi tra circa 2, 3, 4, 5 o più dosi unitarie) è somministrata all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo. In alcuni casi, le più di una dose di particelle di rAAV somministrate all'occhio e/o al controlaterale sono dosi terapeuticamente efficaci.

In alcuni casi, un trattamento con anti-VEGF, ad es. un'iniezione IVT con un agente anti-VEGF come aflibercept, è somministrato all'occhio e/o all'occhio controlaterale a cui sono state somministrate le particelle di rAAV almeno circa una settimana, ad es. almeno circa 7 giorni, antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV (ad es. una dose unitaria tra circa 2×10^{11} vg/occhio e circa 6×10^{11} vg/occhio di particelle di rAAV). In alcuni casi, un trattamento con anti-VEGF, ad es. un'iniezione IVT con un agente anti-VEGF come aflibercept, è somministrato a un occhio circa il Giorno 1 e la dose unitaria di particelle di rAAV, ad es. una dose unitaria tra circa 2×10^{11} vg/occhio e circa 6×10^{11} vg/occhio di particelle di rAAV, è somministrata all'occhio circa il Giorno 8. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è circa 2×10^{11} vg/occhio o circa 6×10^{11} vg/occhio di particelle di rAAV. In alcuni casi, la malattia neovascolare oculare è edema maculare diabetico.

Formulazioni farmaceutiche

In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV è in una formulazione farmaceutica. In alcuni casi, la formulazione farmaceutica comprende le particelle di rAAV, uno o più agenti di forza osmotica o ionica,

uno o più agenti tamponanti, uno o più tensioattivi, e uno o più solventi. In alcuni casi, l'agente di forza osmotica o ionica è cloruro di sodio. In alcuni casi, l'uno o più agenti tamponanti sono fosfato di sodio monobasico e/o fosfato di sodio dibasico. In alcuni casi, il tensioattivo è polossamero 188. In alcuni casi, il solvente è acqua. In alcuni casi, la formulazione farmaceutica comprende le particelle di rAAV, cloruro di sodio, fosfato di sodio monobasico, fosfato di sodio dibasico, e un tensioattivo.

In alcuni casi, la formulazione farmaceutica comprende da circa 1×10^{10} vg/ml a circa 1×10^{13} vg/ml di particelle di rAAV, da circa 150 mM a circa 200 mM di cloruro di sodio, da circa 1 mM a circa 10 mM di fosfato di sodio monobasico, da circa 1 mM a circa 10 mM di fosfato di sodio dibasico, e da circa lo 0,0005% (p/v) a circa lo 0,005% (p/v) di polossamero 188, in cui la formulazione farmaceutica ha un pH da circa 7,0 a circa 7,5. In alcuni casi, la formulazione farmaceutica comprende da circa 6×10^{11} vg/ml a circa 6×10^{12} vg/ml di particelle di rAAV, da circa 150 mM a circa 200 mM di cloruro di sodio, da circa 1 mM a circa 10 mM di fosfato di sodio monobasico, da circa 1 mM a circa 10 mM di fosfato di sodio dibasico, e da circa lo 0,0005% (p/v) a circa lo 0,005% (p/v) di polossamero 188, in cui la formulazione farmaceutica ha un pH da circa 7,0 a circa 7,5. In alcuni casi, la formulazione farmaceutica comprende circa 6×10^{11} vg/ml di particelle di rAAV, da circa 150 mM a circa 200 mM di cloruro di sodio, da circa 1 mM a circa 10 mM di fosfato di sodio monobasico, da circa 1 mM a circa 10 mM di fosfato di sodio dibasico, e da circa lo 0,0005% (p/v) a circa lo 0,005% (p/v) di polossamero 188, in cui la formulazione farmaceutica ha un pH da circa 7,0 a circa 7,5. In alcuni casi, la formulazione farmaceutica comprende circa 6×10^{12} vg/ml di particelle di rAAV,

da circa 150 mM a circa 200 mM di cloruro di sodio, da circa 1 mM a circa 10 mM di fosfato di sodio monobasico, da circa 1 mM a circa 10 mM di fosfato di sodio dibasico, e da circa lo 0,0005% (p/v) a circa lo 0,005% (p/v) di polossamero 188, in cui la formulazione farmaceutica ha un pH da circa 7,0 a circa 7,5.

In alcuni casi, le particelle di rAAV nella formulazione farmaceutica sono presenti a una concentrazione da circa 1×10^{10} vg/ml a circa 1×10^{13} vg/ml. In alcuni casi, le particelle di rAAV nella formulazione farmaceutica sono presenti a una concentrazione da circa 1×10^{09} vg/ml a circa 6×10^{14} vg/ml. In certe forme di realizzazione, le particelle di rAAV nella formulazione farmaceutica sono presenti a una concentrazione da circa 1×10^{09} vg/ml a circa 2×10^{09} vg/ml, da circa 2×10^{09} vg/ml a circa 3×10^{09} , da circa 3×10^{09} vg/ml a circa 4×10^{09} , da circa 4×10^{09} vg/ml a circa 5×10^{09} , da circa 5×10^{09} vg/ml a circa 6×10^{09} , da circa 6×10^{09} vg/ml a circa 7×10^{09} , da circa 7×10^{09} vg/ml a circa 8×10^{09} , da circa 8×10^{09} vg/ml a circa 9×10^{09} , da circa 9×10^{09} vg/ml a circa 10×10^{09} , da circa 10×10^{09} vg/ml a circa 1×10^{10} , da circa 1×10^{10} vg/ml a circa 2×10^{10} , da circa 2×10^{10} vg/ml a circa 3×10^{10} , da circa 3×10^{10} vg/ml a circa 4×10^{10} , da circa 4×10^{10} vg/ml a circa 5×10^{10} , da circa 5×10^{10} vg/ml a circa 6×10^{10} , da circa 6×10^{10} vg/ml a circa 7×10^{10} , da circa 7×10^{10} vg/ml a circa 8×10^{10} , da circa 8×10^{10} vg/ml a circa 9×10^{10} , da circa 9×10^{10} vg/ml a circa 10×10^{10} , da circa 10×10^{10} vg/ml a circa 1×10^{11} , da circa 1×10^{11} vg/ml a circa 2×10^{11} , da circa 2×10^{11} vg/ml a circa 3×10^{11} , da circa 3×10^{11} vg/ml a circa 4×10^{11} , da circa 4×10^{11} vg/ml a circa 5×10^{11} , da circa 5×10^{11} vg/ml a circa 6×10^{11} , da circa 6×10^{11} vg/ml a circa 7×10^{11} , da circa 7×10^{11} vg/ml a circa 8×10^{11} , da circa 8×10^{11} vg/ml a circa 9×10^{11} , da circa 9×10^{11} vg/ml a circa

10×10^{11} , da circa 1×10^{12} vg/ml a circa 2×10^{12} , da circa 2×10^{12} vg/ml a circa 3×10^{12} , da circa 3×10^{12} vg/ml a circa 4×10^{12} , da circa 4×10^{12} vg/ml a circa 5×10^{12} , da circa 5×10^{12} vg/ml a circa 6×10^{12} , da circa 6×10^{12} vg/ml a circa 7×10^{12} , da circa 7×10^{12} vg/ml a circa 8×10^{12} , da circa 8×10^{12} vg/ml a circa 9×10^{12} , da circa 9×10^{12} vg/ml a circa 10×10^{12} , da circa 1×10^{13} vg/ml a circa 2×10^{13} , da circa 2×10^{13} vg/ml a circa 3×10^{13} , da circa 3×10^{13} vg/ml a circa 4×10^{13} , da circa 4×10^{13} vg/ml a circa 5×10^{13} , da circa 5×10^{13} vg/ml a circa 6×10^{13} , da circa 6×10^{13} vg/ml a circa 7×10^{13} , da circa 7×10^{13} vg/ml a circa 8×10^{13} , da circa 8×10^{13} vg/ml a circa 9×10^{13} , da circa 9×10^{13} vg/ml a circa 10×10^{13} , da circa 1×10^{14} vg/ml a circa 2×10^{14} , da circa 2×10^{14} vg/ml a circa 3×10^{14} , da circa 3×10^{14} vg/ml a circa 4×10^{14} , da circa 4×10^{14} vg/ml a circa 5×10^{14} , o da circa 5×10^{14} vg/ml a circa 6×10^{14} vg/ml. In alcuni casi, la formulazione farmaceutica comprende da circa 6×10^{11} vg/ml a circa 6×10^{12} vg/ml di particelle di rAAV. In alcuni casi, la formulazione farmaceutica comprende circa 6×10^{12} vg/ml di particelle di rAAV. In alcuni casi, la formulazione farmaceutica comprende circa 6×10^{11} vg/ml di particelle di rAAV.

In alcuni casi, il cloruro di sodio nella formulazione farmaceutica è presente a una concentrazione da circa 150 mM a circa 200 mM. In alcune forme di realizzazione, il cloruro di sodio nella formulazione farmaceutica è presente a una concentrazione di circa 150 mM, circa 160 mM, circa 170 mM, circa 180 mM, circa 190 mM o circa 200 mM. In certe forme di realizzazione, il cloruro di sodio nella formulazione farmaceutica è presente a una concentrazione di circa 180 mM.

In alcuni casi, il fosfato di sodio monobasico è presente nella formulazione farmaceutica a una concentrazione da circa 1 mM a circa 10 mM.

In alcuni casi, il fosfato di sodio monobasico è presente nella formulazione farmaceutica a una concentrazione di qualsiasi tra circa 1 mM, circa 2 mM, circa 3 mM, circa 4 mM, circa 5 mM, circa 6 mM, circa 7 mM, circa 8 mM, circa 9 mM, o circa 10 mM. In certe forme di realizzazione, il fosfato di sodio monobasico è presente nella formulazione farmaceutica a una concentrazione di circa 5 mM.

In alcuni casi, il fosfato di sodio dibasico è presente nella formulazione farmaceutica a una concentrazione da circa 1 mM a circa 10 mM. In alcuni casi, il fosfato di sodio dibasico è presente nella formulazione farmaceutica a una concentrazione di qualsiasi tra circa 1 mM, circa 2 mM, circa 3 mM, circa 4 mM, circa 5 mM, circa 6 mM, circa 7 mM, circa 8 mM, circa 9 mM, o circa 10 mM. In certe forme di realizzazione, il fosfato di sodio dibasico è presente nella formulazione farmaceutica a una concentrazione di circa 5 mM.

In alcuni casi, il Polossamero 188 è presente nella formulazione farmaceutica a una concentrazione da circa lo 0,0005% (p/v) a circa lo 0,005% (p/v). In alcuni casi, il Polossamero 188 è presente nella formulazione farmaceutica a una concentrazione di qualsiasi tra circa lo 0,0005% (p/v), circa lo 0,0006% (p/v), circa lo 0,0007% (p/v), circa lo 0,0008% (p/v), circa lo 0,0009% (p/v), circa lo 0,001% (p/v), circa lo 0,002% (p/v), circa lo 0,003% (p/v), circa lo 0,004% (p/v), o circa lo 0,005% (p/v). In alcune forme di realizzazione, il Polossamero 188 è presente nella formulazione farmaceutica a una concentrazione di circa 0,001% (p/v).

In alcuni casi, la formulazione farmaceutica ha un pH da circa 7,0 a circa 7,5. In alcuni casi, la formulazione farmaceutica ha un pH di circa 7,0, circa 7,1, circa 7,2, circa 7,3, circa 7,4 o circa 7,5. In alcune forme di

realizzazione, la formulazione farmaceutica ha un pH di circa 7,3. In alcuni casi, acido cloridrico e idrossido di sodio sono usati per regolare il pH della formulazione farmaceutica.

In alcuni casi, la formulazione farmaceutica comprende circa 6×10^{12} vg/ml di particelle di rAAV, circa 180 mM di cloruro di sodio, circa 5 mM di fosfato di sodio monobasico, circa 5 mM di fosfato di sodio dibasico, e circa lo 0,001% (p/v) di polossamero 188, in cui la formulazione farmaceutica ha un pH di circa 7,3. In alcuni casi, la formulazione farmaceutica comprende circa 6×10^{11} vg/ml di particelle di rAAV, circa 180 mM di cloruro di sodio, circa 5 mM di fosfato di sodio monobasico, circa 5 mM di fosfato di sodio dibasico, e circa lo 0,001% (p/v) di polossamero 188, in cui la formulazione farmaceutica ha un pH di circa 7,3.

In alcuni casi, le formulazioni farmaceutiche sono idonee per somministrazione all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo, ad es. un paziente umano, tramite iniezione intravitreale (IVT) per conseguire un effetto terapeutico o profilattico desiderato. In alcuni casi, la formulazione farmaceutica è fornita come soluzione omogenea ricostituita. In alcuni casi, la soluzione è una sospensione. In alcuni casi, la formulazione farmaceutica è fornita come sospensione congelata, ed è scongelata precedentemente a una somministrazione all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo. In alcuni casi, la soluzione è isotonica.

In altre forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprendente, ad es., un vettore AAV2.7m8 che comprende una sequenza di acido nucleico codificante l'agente anti-VEGF (ad es. aflibercept o un frammento funzionale o variante di esso), è fornita in una forma liofilizzata, ed

è ricostituita precedentemente a una somministrazione all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo. In alcuni casi, i metodi descritti nel presente contesto comprendono inoltre i passi di ricostituire, dissolvere o solubilizzare una composizione farmaceutica liofilizzata comprendente rAAV (ad es. AAV2.7m8) e codificante l'agente anti-VEGF (ad es. aflibercept o un frammento funzionale o variante di esso) in un tampone precedentemente a una somministrazione al soggetto. In alcuni casi, tale composizione farmaceutica liofilizzata comprende uno o più dei seguenti: un crioprotettore, un tensioattivo, un sale, uno stabilizzante, o qualsiasi combinazione di essi.

In alcuni casi, la formulazione farmaceutica è una soluzione omogenea. In alcuni casi, la soluzione omogenea è fornita in una siringa pre-riempita. In alcuni casi, la formulazione farmaceutica è fornita come sospensione. In alcuni casi, una sospensione è una soluzione. In alcuni casi, la sospensione è refrigerata. In alcuni casi, la sospensione è congelata. In alcuni casi, i metodi descritti nel presente contesto comprendono inoltre il passo di riscaldare la sospensione refrigerata a temperatura ambiente e/o agitare la sospensione per garantire che l'ingrediente/gli ingredienti attivo/i sia/no dissolto/i e/o distribuito/i uniformemente in soluzione precedentemente a una somministrazione all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo (ad es. tramite iniezione IVT). In alcuni casi, i metodi descritti nel presente contesto comprendono inoltre il passo di scongelare la sospensione congelata e riscaldare a temperatura ambiente e/o agitare la sospensione per garantire che l'ingrediente/gli ingredienti attivo/i sia/no dissolto/i e/o distribuito/i uniformemente in soluzione precedentemente a una somministrazione all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo (ad es. tramite iniezione IVT). In alcuni casi, la

sospensione è diluita precedentemente a una somministrazione al soggetto (ad es. tramite iniezione IVT). In alcuni casi, la sospensione è fornita come siringa pre-riempita.

In alcuni casi, la formulazione farmaceutica è fornita come sospensione congelata. In alcuni casi, la sospensione comprende un eccipiente farmaceuticamente accettabile, ad es. tensioattivo, glicerolo, tensioattivo non ionico, tampone, glicole, sale e qualsiasi combinazione di essi.

In alcuni casi, la sospensione è una soluzione. In alcuni casi, la sospensione comprende micelle.

In alcuni casi, per la stabilità allo stoccaggio e comodità di manipolazione, una formulazione farmaceutica, comprendente rAAV (ad es. AAV2.7m8) e una sequenza di acido nucleico che codifica l'agente anti-VEGF (ad es. aflibercept o un frammento o variante funzionale di esso), è formulata come polvere liofilizzata, essiccata per congelamento o essiccata sottovuoto che è ricostituita con soluzione salina, tampone o acqua precedentemente a una somministrazione nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale dell'individuo. In alternativa, la formulazione farmaceutica è formulata come soluzione acquosa, come una sospensione o una soluzione omogenea. Una formulazione farmaceutica può contenere particelle di rAAV comprendenti una sequenza di acido nucleico che codifica aflibercept. Per stabilizzare una formulazione farmaceutica possono essere usati vari eccipienti, come tampone fosfato, PBS o Tris, glicole, glicerolo, soluzione salina, tensioattivo (ad es. pluronic o polisorbato) o qualsiasi combinazione di essi. Aggiuntivamente, crioprotettori, come alcoli, possono essere usati come stabilizzante nelle condizioni di

congelamento o essiccazione. In alcuni casi, la terapia genica è fornita come sospensione, sospensione refrigerata o sospensione congelata.

In alcuni casi, una sospensione della formulazione farmaceutica come divulgato nel presente contesto ha un volume di qualsiasi tra circa 20 µl, 30 µl, 40 µl, 50 µl, 60 µl, 70 µl, 80 µl, 90 µl, 100 µl, 200 µl, 300 µl, 400 µl, 500 µl, 600 µl, 700 µl, 800 µl, 900 µl, o 1000 µl. In alcuni casi, una sospensione della formulazione farmaceutica come divulgato nel presente contesto ha un volume di circa 250 µl. In alcuni casi, la sospensione della formulazione farmaceutica come divulgato nel presente contesto ha un volume tra 0,1 e 0,5 ml, tra 0,1 e 0,2 ml, tra 0,3 e 0,5 ml, tra 0,5-1,0 ml, tra 0,5-0,7 ml, tra 0,6 e 0,8 ml, tra 0,8 e 1 ml, tra 0,9 e 1,1 ml, tra 1,0 e 1,2 ml, o tra 1,0 e 1,5 ml. In altre forme di realizzazione, il volume è non più di 0,1 ml, 0,2 ml, 0,3 ml, 0,4 ml, 0,5 ml, 0,6 ml, 0,7 ml, 0,8 ml, 0,9 ml, 1,0 ml, 1,1 ml, 1,2 ml, 1,3 ml, 1,4 ml, o 1,5 ml. In alcuni casi, la sospensione della formulazione farmaceutica come divulgato nel presente contesto ha un volume di circa 0,25 ml.

In alcuni casi, una sospensione della formulazione farmaceutica come divulgato nel presente contesto è fornita come sospensione congelata filtrata sterile in una fiala sterile pronta all'uso (ad es. una fiala da 0,5 ml; ad es., una fiala Crystal Zenith®) con un tappo pronto all'uso (ad es. un tappo realizzato in clorobutile) e sigillata (ad es. con un sigillo a strappo in alluminio sterile). In alcuni casi, una sospensione della formulazione farmaceutica come divulgato nel presente contesto è fornita come sospensione congelata filtrata sterile in una fiala sterile pronta all'uso (ad es. una fiala da 0,5 ml; ad es. una fiala Crystal Zenith®) con un tappo pronto all'uso (ad es. un tappo realizzato in clorobutile) e sigillata (ad es. con un sigillo a strappo in alluminio sterile), in cui la fiala

contiene un volume tra 0,1 e 0,5 ml, tra 0,1 e 0,2 ml, tra 0,2 e 0,3 ml, tra 0,3 e 0,4 ml o tra 0,4 e 0,5 ml della sospensione della formulazione farmaceutica. In alcuni casi, una sospensione della formulazione farmaceutica come divulgato nel presente contesto è fornita come sospensione congelata filtrata sterile in una fiala sterile pronta all'uso (ad es. una fiala da 0,5 ml; ad es. una fiala Crystal Zenith®) con un tappo pronto all'uso (ad es. un tappo realizzato in clorobutile) e sigillata (ad es. con un sigillo a strappo in alluminio sterile), in cui la fiala contiene un volume di circa 0,25 ml della sospensione della formulazione farmaceutica.

In alcuni casi, formulazioni farmaceutiche divulgate nel presente contesto sono disegnate, progettate o adattate per somministrazione a un primate (ad es. primate non umano e soggetti umani) tramite iniezione intravitreale o sottoretinica. In alcuni casi, una formulazione farmaceutica comprendente particelle di rAAV comprendenti una sequenza di acido nucleico che codifica l'agente anti-VEGF (ad es., aflibercept) è formulata per iniezione intravitreale in un occhio di un individuo. In alcuni casi, la composizione farmaceutica è formulata a o ricostituita a una concentrazione che consente un'iniezione intravitreale di un volume di non più di circa o non più di qualsiasi tra 25 µl, 30 µl, 35 µl, 40 µl, 45 µl, 50 µl, 55 µl, 60 µl, 65 µl, 70 µl, 75 µl, 80 µl, 85 µl, 90 µl, 95 µl, 100 µl, 110 µl, 120 µl, 130 µl, 140 µl, 150 µl, 160 µl, 170 µl, 180 µl, 190 µl, 200 µl, 210 µl, 220 µl, 230 µl, 240 µl, o 250 µl. In alcuni casi, una dose unitaria della formulazione farmaceutica comprende un volume di non più di circa o non più di qualsiasi tra 25 µl, 30 µl, 35 µl, 40 µl, 45 µl, 50 µl, 55 µl, 60 µl, 65 µl, 70 µl, 75 µl, 80 µl, 85 µl, 90 µl, 95 µl, 100 µl, 110 µl, 120 µl, 130 µl, 140 µl, 150 µl, 160 µl, 170 µl, 180 µl, 190 µl, 200 µl, 210 µl, 220 µl, 230 µl,

240 μ l, o 250 μ l. In alcuni casi, i metodi divulgati nel presente contesto comprendono un'iniezione intravitreale di un volume di qualsiasi tra circa 25 μ l, 30 μ l, 35 μ l, 40 μ l, 45 μ l, 50 μ l, 55 μ l, 60 μ l, 65 μ l, 70 μ l, 75 μ l, 80 μ l, 85 μ l, 90 μ l, 95 μ l, 100 μ l, 110 μ l, 120 μ l, 130 μ l, 140 μ l, 150 μ l, 160 μ l, 170 μ l, 180 μ l, 190 μ l, 200 μ l, 210 μ l, 220 μ l, 230 μ l, 240 μ l o 250 μ l di una soluzione o sospensione di una formulazione farmaceutica comprendente un rAAV (ad es. AAV2.7m8) e una sequenza di acido nucleico che codifica l'agente anti-VEGF (ad es. aflibercept). In alcuni casi, i metodi divulgati nel presente contesto comprendono un'iniezione intravitreale di un volume di circa 30 μ l o circa 100 μ l di una soluzione o sospensione di una formulazione farmaceutica comprendente un rAAV (ad es. AAV2.7m8) e una sequenza di acido nucleico che codifica l'agente anti-VEGF (ad es. aflibercept). In alcuni casi, i metodi divulgati nel presente contesto comprendono un'iniezione intravitreale di un volume di circa 30 μ l di una soluzione o sospensione di una formulazione farmaceutica comprendente un rAAV (ad es. AAV2.7m8) e una sequenza di acido nucleico che codifica l'agente anti-VEGF (ad es. aflibercept). In alcuni casi, i metodi divulgati nel presente contesto comprendono un'iniezione intravitreale di un volume di circa 100 μ l di una soluzione o sospensione di una formulazione farmaceutica comprendente un rAAV (ad es. AAV2.7m8) e una sequenza di acido nucleico che codifica l'agente anti-VEGF (ad es. aflibercept).

In alcuni casi, una particella di AAV2.7m8 comprendente una sequenza di acido nucleico del transgene di agente anti-VEGF (ad es. aflibercept) descritto nel presente contesto è un componente di una formulazione farmaceutica per terapia genica. In alcuni casi, una particella di rAAV di qualsiasi sierotipo comprendente la proteina di capsido di variante 7m8 come

descritto nel presente contesto è usata per realizzare una sospensione congelata o una composizione con formulazione crioessiccata o liofilizzata. In alcuni casi, la terapia genica è formulata come sospensione refrigerata o congelata. In alcuni casi, la particella di rAAV è rAAV2. In alcuni casi, la sospensione o liofilizzato della formulazione farmaceutica comprende rAAV2 comprendente la proteina di capsidi di variante 7m8 e una sequenza di DNA che codifica l'agente anti-VEGF (ad es. aflibercept). In alcuni casi, la sospensione è refrigerata o congelata.

In alcuni casi, la somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo è mediante iniezione intravitreale (IVT). Per un'iniezione IVT, le particelle di rAAV possono essere erogate sotto forma di una sospensione di una formulazione farmaceutica (ad es. come descritto nel presente contesto). Inizialmente, un anestetico topico è applicato sulla superficie dell'occhio, seguito da una soluzione antisettica oftalmica. L'occhio è tenuto aperto, con o senza strumentazione, e le particelle di rAAV sono iniettate attraverso la sclera con un ago corto e stretto, ad es. un ago calibro 30, nella cavità vitrea dell'occhio e/o dell'occhio controlaterale dell'individuo sotto osservazione diretta. Tipicamente, un volume tra circa 25 µl e circa 250 µl (ad es. qualsiasi tra circa 25 µl, circa 30 µl, circa 40 µl, circa 50 µl, circa 60 µl, circa 70 µl, circa 80 µl, circa 90 µl, circa 100 µl, circa 110 µl, circa 120 µl, circa 130 µl, circa 140 µl, circa 150 µl, circa 160 µl, circa 170 µl, circa 180 µl, circa 190 µl, circa 200 µl, circa 210 µl, circa 220 µl, circa 230 µl, circa 240 µl, o circa 250 µl) di una sospensione di particelle di rAAV può essere erogato all'occhio mediante iniezione IVT. In alcuni casi, la dose unitaria di particelle di rAAV comprende un volume di circa 100 µl. In alcuni casi, la dose

unitaria di particelle di rAAV comprende un volume di circa 30 µl. In alcuni casi, l'iniezione IVT è svolta in combinazione con rimozione dell'umor vitreo. In alcuni casi, può essere svolta una vitrectomia, e l'intero volume di gel vitreo è rimpiazzato con un'infusione della sospensione di particelle di rAAV (ad es. circa 4 ml della sospensione di particelle di rAAV). Una vitrectomia è svolta usando una cannula di taglia di orifizio appropriata (ad es. da calibro 20 a calibro 27), in cui il volume di gel vitreo che è rimosso è rimpiazzato mediante infusione di fluido, ad es. soluzione salina, una soluzione isotonica, una sospensione di particelle di rAAV, dalla cannula di infusione. Una somministrazione IVT è generalmente ben tollerata. Alla conclusione della procedura, vi è talvolta un lieve arrossamento in corrispondenza del sito di iniezione. Vi è dolorabilità occasionale, ma la maggior parte dei pazienti non segnala alcun dolore. Non è necessaria alcuna benda per gli occhi o schermo per gli occhi dopo questa procedura, e le attività non sono vengono ristrette. A volte, un collirio antibiotico è prescritto per svariati giorni per aiutare a prevenire un'infezione.

In alcuni casi, la formulazione farmaceutica è una dose unitaria (ad es. una dose terapeuticamente efficace) da somministrare all'occhio e/o all'occhio controlaterale di un individuo (ad es. un essere umano o primate non umano) tramite iniezione IVT per il trattamento di una malattia o disturbo oculare caratterizzato da angiogenesi o neovascolarizzazione anomala (ad es. eccessiva). In alcuni casi, la formulazione farmaceutica comprende una dose unitaria (ad es. una dose terapeuticamente efficace) come descritto più in dettaglio altrove nel presente contesto. In alcuni casi, il volume della dose unitaria (ad es. una dose terapeuticamente efficace) di un vettore virale (ad es.

un vettore rAAV divulgato nel presente contesto) somministrato al soggetto è non più uno qualsiasi tra circa 25 µl, 30 µl, 35 µl, 40 µl, 45 µl, 50 µl, 55 µl, 60 µl, 65 µl, 70 µl, 75 µl, 80 µl, 85 µl, 90 µl, 95 µl, 100 µl, 110 µl, 120 µl, 130 µl, 140 µl, 150 µl, 160 µl, 170 µl, 180 µl, 190 µl, 200 µl, 210 µl, 220 µl, 230 µl, 240 µl, o 250 µl, incluso qualsiasi range tra questi valori. Ridurre al minimo il volume della dose unitaria da somministrare al soggetto può ovviare o attenuare i cambiamenti della pressione oculare e altri effetti avversi associati a un'iniezione IVT (ad es. pressione intraoculare elevata, infiammazione, irritazione o dolore).

Le formulazioni farmaceutiche idonee per l'uso oculare includono soluzioni o dispersioni acquose sterili e polveri sterili per la preparazione estemporanea di soluzioni, sospensione o dispersione iniettabili sterili. Per la somministrazione intravitreale, i veicolanti idonei includono soluzione salina fisiologica, acqua batteriostatica, soluzione salina tamponata con fosfato (PBS, Phosphate Buffered Saline) e/o un agente isotonico, ad es. glicerolo. In certe forme di realizzazione, la formulazione farmaceutica è sterile e fluida nella misura in cui esista una facile siringabilità o iniettabilità. In certe forme di realizzazione, la formulazione farmaceutica è stabile nelle condizioni di fabbricazione e stoccaggio ed è preservata contro l'azione contaminante di microrganismi come batteri e funghi. In alcuni casi, la composizione farmaceutica può includere un agente isotonico, come un sale o glicerolo. In alcuni casi, alla composizione farmaceutica viene aggiunto un tensioattivo o uno stabilizzante per prevenire l'aggregazione.

In alcuni casi, la formulazione farmaceutica contiene un eccipiente o un veicolante. Un veicolante è un solvente o mezzo di dispersione contenente, per

esempio, acqua, soluzione salina, etanolo, un poliolo (per esempio, glicerolo, propilenglicole e polietilenglicole liquido, e simili), e qualsiasi combinazione di essi. La fluidità adeguata può essere mantenuta, per esempio, mediante l'uso di un rivestimento come lecitina, mediante il mantenimento della granulometria richiesta nel caso di una dispersione e mediante l'uso di tensioattivi come polisorbati (ad es. Tween™, polisorbato 20, polisorbato 80), dodecilsolfato di sodio (laurilsolfato di sodio), ossido di laurildimetilammina, bromuro di cetiltrimetilammonio (CTAB), alcoli polietossilati, polioossietilensorbitano, ottossinolo (Triton X100™), N,N-dimetildodecilammina-N-ossido, bromuro di esadeciltrimetilammonio (HTAB), poliossile 10 lauriletere, Brij 721™, sali biliari (desossicolato di sodio, colato di sodio), acidi Pluronic (F-68, F-127), olio di ricino poliossile (Cremophor™), nonilfenolo etossilato (Tergitol™), ciclodestrine, e cloruro di etilbenzetonio (Hyamine™). La prevenzione dell'azione di microrganismi può essere conseguita mediante vari agenti antibatterici e antifungini, per esempio, parabeni, clorobutanolo, fenolo, acido sorbico, cresolo, timerosale, e simili. In molte forme di realizzazione, agenti isotonici sono inclusi nella formulazione farmaceutica, per esempio, zuccheri, polialcololi come mannitolo, sorbitolo, e/o cloruro di sodio. Un assorbimento prolungato delle composizioni interne può essere procurato includendo nella composizione un agente che ritardi l'assorbimento, per esempio, monostearato di alluminio e gelatina. In alcuni casi, il veicolante farmaceutico include fosfato di sodio, cloruro di sodio, polisorbato e saccarosio. In alcuni casi, una formulazione farmaceutica comprende un tensioattivo, ad es. un tensioattivo non ionico come polisorbato, polossamero o pluronic. In alcuni casi, l'aggiunta di un tensioattivo non ionico riduce l'aggregazione nella composizione farmaceutica.

Sono anche descritti nel presente contesto kit comprendenti almeno una formulazione farmaceutica descritta nel presente contesto. In alcuni casi, il kit comprende una sospensione congelata di una formulazione farmaceutica (ad es. una dose unitaria in una fiala). In alcuni casi, il kit comprende una formulazione farmaceutica liofilizzata o crioessiccata (ad es. una dose unitaria in una fiala) divulgata nel presente contesto e una soluzione per dissolvere, diluire e/o ricostituire la composizione farmaceutica liofilizzata. In alcuni casi, la soluzione per la ricostituzione o diluizione è rifornita come siringa pre-riempita. In alcuni casi, un kit comprende una composizione farmaceutica crioessiccata o liofilizzata comprendente rAAV (ad es. AAV2.7m8) e una soluzione per ricostituire la composizione farmaceutica a una concentrazione o volume desiderati. In alcuni casi, il kit include un tampone che aiuta a prevenire l'aggregazione alla ricostituzione della composizione farmaceutica divulgata nel presente contesto. In alcuni casi, la composizione farmaceutica è fornita in una siringa pre-riempita. In alcuni casi, un kit comprende una siringa o un contenitore a doppia camera, in cui una delle camere contiene un tampone per dissolvere o diluire la composizione farmaceutica. In alcuni casi, il kit comprende una siringa per l'iniezione. In alcuni casi, la soluzione ricostituita viene filtrata prima della somministrazione. In alcuni casi, il kit comprende un filtro o una siringa filtrante per filtrare la composizione farmaceutica ricostituita prima della somministrazione a un paziente. In alcuni casi, il kit comprende una sospensione della formulazione farmaceutica comprendente le particelle di rAAV come divulgato nel presente contesto fornita come sospensione congelata filtrata sterile in una fiala sterile pronta all'uso (ad es. una fiala da 0,5 ml; ad es., una fiala Crystal Zenith®) con un tappo pronto all'uso (ad es. un

tappo realizzato in clorobutile) e sigillata (ad es. con un sigillo a strappo in alluminio sterile). In alcuni casi, il kit comprende una sospensione della formulazione farmaceutica comprendente le particelle di rAAV come divulgato nel presente contesto fornita come sospensione congelata filtrata sterile in una fiala sterile pronta all'uso (ad es. una fiala da 0,5 ml; ad es. una fiala Crystal Zenith®) con un tappo pronto all'uso (ad es. un tappo realizzato in clorobutile) e sigillata (ad es. con un sigillo a strappo in alluminio sterile), in cui la fiala contiene un volume tra 0,1 e 0,5 ml, tra 0,1 e 0,2 ml, tra 0,2 e 0,3 ml, tra 0,3 e 0,4 ml o tra 0,4 e 0,5 ml della sospensione della formulazione farmaceutica. In alcuni casi, il kit comprende una sospensione della formulazione farmaceutica comprendente le particelle di rAAV come divulgato nel presente contesto fornita come sospensione congelata filtrata sterile in una fiala sterile pronta all'uso (ad es. una fiala da 0,5 ml; ad es. una fiala Crystal Zenith®) con un tappo pronto all'uso (ad es. un tappo realizzato in clorobutile) e sigillata (ad es. con un sigillo a strappo in alluminio sterile), in cui la fiala contiene un volume di circa 0,25 ml della sospensione della formulazione farmaceutica. In alcuni casi, il kit comprende inoltre istruzioni per l'uso, ad es. istruzioni per trattare una malattia neovascolare oculare con le particelle di rAAV divulgate nel presente contesto.

Malattie neovascolari oculari

In un caso, la presente divulgazione descrive metodi per il trattamento di una malattia neovascolare oculare in un individuo. In un altro caso, la presente divulgazione descrive metodi per ridurre fluido retinico nell'occhio di un individuo con una malattia neovascolare oculare.

In alcuni casi, la malattia neovascolare oculare è degenerazione maculare legata all'età (DMLE), DMLE umida, neovascolarizzazione retinica,

neovascolarizzazione coroideale, retinopatia diabetica, retinopatia diabetica proliferativa, occlusione della vena retinica, occlusione della vena retinica centrale, occlusione della vena retinica di branca, edema maculare diabetico, ischemia retinica diabetica, retinopatia ischemica, ed edema retinico diabetico, o qualsiasi combinazione di essi. In alcuni casi, la malattia neovascolare oculare è una neovascolarizzazione coroideale attiva (CNV) secondaria a degenerazione maculare legata all'età (DMLE).

In alcuni casi, la malattia neovascolare oculare è wAMD ricorrente e/o persistente. In alcuni casi, la malattia neovascolare oculare è CNV subfoveale attiva secondaria a DMLE. In alcuni casi, la CNV subfoveale attiva secondaria a DMLE occupa $\geq 50\%$ della grandezza totale della lesione. In alcuni casi, la CNV subfoveale attiva secondaria a DMLE occupa $\geq 50\%$ della grandezza totale della lesione con evidenza di fuoriuscita all'angiogramma con fluoresceina (FA), fluido alla tomografia a coerenza ottica a dominio spettrale (SD-OCT, Spectral Domain Optical Coherence Tomography) e/o emorragia sottoretinica alla fotografia a colori del fundus. In alcuni casi, la CNV subfoveale attiva secondaria a DMLE occupa $\geq 50\%$ della grandezza totale della lesione con evidenza di fuoriuscita all'angiogramma con fluoresceina (FA), fluido alla tomografia a coerenza ottica a dominio spettrale (SD-OCT) e/o emorragia sottoretinica alla fotografia a colori del fundus, e l'intera dimensione della lesione non eccede le 12 aree del disco di studio di fotocoagulazione maculare. In alcuni casi, l'occhio e/o l'occhio controlaterale dell'individuo esibiva la migliore acuità visiva corretta (BCVA) sulla base di un accertamento con lettere ETDRS di 78-25 (ad es. minore di qualsiasi tra circa 78, circa 75, circa 70, circa 65, circa 60, circa 55, circa 50, circa 45, circa 40, circa 35, circa 30 o circa 25)

antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV della presente divulgazione. In alcuni casi, l'occhio e/o l'occhio controlaterale dell'individuo ha esibito la migliore acuità visiva corretta (BCVA) sulla base di un accertamento con lettere ETDRS di più di qualsiasi tra circa 5, circa 10, circa 15, circa 20, circa 25, circa 30, circa 35, circa 40, circa 45, circa 50, circa 55, circa 60, circa 65, circa 70, circa 75, circa 80, circa 85, circa 90, circa 95, o circa 100 antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV della presente divulgazione.

In alcuni casi, l'individuo aveva vasculopatia coroideale polipoidale (PCV) nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV.

In alcuni casi, un accertamento con lettere ETDRS è fatto a circa 0,5 metri, circa 1 metro, circa 2 metri, circa 3 metri o circa 4 metri. In alcuni casi, un accertamento con lettere ETDRS è fatto a circa 4 metri.

In alcuni casi, l'individuo ha ricevuto almeno un trattamento antecedente (ad es. almeno uno, almeno due, almeno tre, almeno quattro, almeno 5 o più trattamenti) con un agente anti-VEGF (ad es. bevacizumab, brolocizumab, ranibizumab, faricimab, abicipar pegol, conbercept, OPT-302, KSI-301, sunitinib maleato iniettabile (GB-102), PAN-90806 (PanOptica), e/o aflibercept) nelle circa ultime 12 settimane (ad es. circa 3 o circa 4 mesi) antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, l'individuo ha ricevuto 2 o 3 trattamenti antecedenti con un agente anti-VEGF (ad es. bevacizumab, brolocizumab, ranibizumab, faricimab, abicipar pegol, conbercept, OPT-302, KSI-301, sunitinib maleato iniettabile (GB-102), PAN-90806 (PanOptica), e/o aflibercept) nell'occhio e/o nell'occhio

controlaterale durante circa le ultime 12 settimane (ad es. circa 3 o circa 4 mesi) antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale. In alcuni casi, l'individuo ha ricevuto almeno circa 1, almeno circa 5, almeno circa 10, almeno circa 20, almeno circa 30, almeno circa 40, almeno circa 50, almeno circa 60, almeno circa 70, almeno circa 80, almeno circa 90, almeno circa 100, almeno circa 110, almeno circa 120 o più trattamenti antecedenti con un agente anti-VEGF (ad es. bevacizumab, brolucizumab, ranibizumab, faricimab, abicipar pegol, conbercept, OPT-302, KSI-301, sunitinib maleato iniettabile (GB-102), PAN-90806 (PanOptica), e/o aflibercept) nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, l'individuo aveva un intervallo di iniezione calcolato di agente anti-VEGF (ad es. bevacizumab, brolucizumab, ranibizumab e/o aflibercept) nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale di circa 2 settimane, circa 3 settimane, 4 settimane, circa 5 settimane, circa 6 settimane, circa 7 settimane, circa 8 settimane, circa 9 settimane, circa 10 settimane, circa 11 settimane, circa 12 settimane, o più. In alcuni casi, l'individuo aveva un intervallo di iniezione calcolato di anti-VEGF (ad es. bevacizumab, brolucizumab, ranibizumab e/o aflibercept) nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale di circa 5-7 settimane, circa 4-10 settimane, circa 4-7 settimane, o circa 4-6 settimane. In alcuni casi, l'individuo ha ricevuto un trattamento antecedente con un agente anti-VEGF (ad es. bevacizumab, brolucizumab, ranibizumab, faricimab, abicipar pegol, conbercept, OPT-302, KSI-301, sunitinib maleato iniettabile (GB-102), PAN-90806 (PanOptica), e/o aflibercept) nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale in qualsiasi tra almeno circa 5 giorni, almeno circa 6 giorni, almeno circa 7 giorni, almeno circa 8 giorni, almeno circa

9 giorni, almeno circa 10 giorni, almeno circa 11 giorni, almeno circa 12 giorni, almeno circa 13 giorni, almeno circa 14 giorni, almeno circa 15 giorni, almeno circa 16 giorni, almeno circa 17 giorni, almeno circa 18 giorni, almeno circa 19 giorni, o almeno circa 20 giorni antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale. In alcuni casi, l'individuo ha ricevuto un trattamento antecedente con un agente anti-VEGF (ad es. bevacizumab, brolocizumab, ranibizumab, faricimab, abicipar pegol, conbercept, OPT-302, KSI-301, sunitinib maleato iniettabile (GB-102), PAN-90806 (PanOptica), e/o aflibercept) nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale circa 7 giorni, circa 10 giorni o circa 14 giorni antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale. In alcuni casi, il trattamento antecedente comprende un'iniezione intraoculare, sottoretinica o intravitreale con un agente anti-VEGF. In alcuni casi, l'agente anti-VEGF è bevacizumab, brolocizumab, ranibizumab, faricimab, abicipar pegol, conbercept, OPT-302, KSI-301, sunitinib maleato iniettabile (GB-102), PAN-90806 (PanOptica), e/o aflibercept. In alcuni casi, l'agente anti-VEGF è aflibercept. In alcuni casi, l'individuo ha ricevuto tra 1 e 20 (ad es. qualsiasi tra 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20) trattamenti antecedenti con un agente anti-VEGF (ad es. bevacizumab, brolocizumab, ranibizumab, faricimab, abicipar pegol, conbercept, OPT-302, KSI-301, sunitinib maleato iniettabile (GB-102), PAN-90806 (PanOptica), e/o aflibercept) nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale durante gli ultimi circa 12 mesi antecedenti la somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale. In alcuni casi, l'individuo ha ricevuto circa 9 o circa 10 trattamenti antecedenti con un agente anti-VEGF (ad es.

bevacizumab, brolucizumab, ranibizumab, faricimab, abicipar pegol, conbercept, OPT-302, KSI-301, sunitinib maleato iniettabile (GB-102), PAN-90806 (PanOptica), e/o aflibercept) nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale durante gli ultimi circa 12 mesi antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale.

In alcuni casi, l'individuo ha dimostrato una risposta significativa a un trattamento antecedente con agente anti-VEGF. In alcuni casi, l'agente anti-VEGF è aflibercept, una variante funzionale di esso, o un frammento funzionale di esso. In alcuni casi, l'agente anti-VEGF comprende un polipeptide comprendente una sequenza di amminoacidi con almeno circa il 95% di identità rispetto alla sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 35. In alcuni casi, l'individuo ha dimostrato una risposta significativa a un trattamento antecedente con anti-VEGF (ad es. aflibercept, una variante funzionale di esso, o un frammento funzionale di esso) per la malattia neovascolare oculare nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale. In alcuni casi, è determinato che l'individuo ha una risposta significativa a un antecedente trattamento con anti-VEGF (ad es., aflibercept, una variante funzionale di esso, o un frammento funzionale di esso) per la malattia neovascolare oculare se è osservata una riduzione di $\geq 30\%$ (ad es. qualsiasi tra almeno il 30%, almeno il 40%, almeno il 50%, almeno il 60%, almeno il 70%, almeno l'80%, almeno il 90%, o il 100%) di spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) in qualsiasi tra almeno circa 5 giorni, almeno circa 6 giorni, almeno circa 7 giorni, almeno circa 8 giorni, almeno circa 9 giorni, almeno circa 10 giorni, almeno circa 11 giorni, almeno circa 12 giorni,

almeno circa 13 giorni, almeno circa 14 giorni, almeno circa 15 giorni, almeno circa 16 giorni, almeno circa 17 giorni, o più, dopo il trattamento con anti-VEGF, in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) alla diagnosi iniziale nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, è determinato che l'individuo ha una risposta significativa a un antecedente trattamento con anti-VEGF (*ad es.*, aflibercept, una variante funzionale di esso, o un frammento funzionale di esso) per la malattia neovascolare oculare se è osservata una riduzione di $\geq 30\%$ (ad es. qualsiasi tra almeno il 30%, almeno il 40%, almeno il 50%, almeno il 60%, almeno il 70%, almeno l'80%, almeno il 90%, o il 100%) nello spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) a più di qualsiasi tra circa 7 giorni, circa 10 giorni, o circa 14 giorni dopo il trattamento con anti-VEGF, in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) antecedentemente a una somministrazione dell'antecedente trattamento con anti-VEGF nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale.

In alcuni casi, lo spessore del sottocampo centrale e/o lo spessore retinico centrale è determinato mediante SD-OCT nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. Lo spessore del sottocampo centrale è lo spessore medio aritmetico della retina attraverso il sottocampo centrale di una griglia ETDRS, un cerchio di diametro di 1 mm centrato sulla fovea.

In alcuni casi, è determinato che l'individuo ha una risposta significativa a un antecedente trattamento con agente anti-VEGF (*ad es.*, aflibercept, una variante funzionale di esso, o un frammento funzionale di esso) per la malattia neovascolare oculare se è osservata una riduzione di $\geq 20\%$ (ad es. qualsiasi tra almeno il 20%, almeno il 30%, almeno il 40%, almeno il 50%, almeno il 60%,

almeno il 70%, almeno l'80%, almeno il 90%, o il 100%) nello spessore del sottocampo centrale e/o spessore retinico centrale in confronto allo spessore del sottocampo centrale e/o spessore retinico centrale antecedentemente a una somministrazione dell'antecedente trattamento con l'agente anti-VEGF. In alcuni casi, è determinato che l'individuo ha una risposta significativa a un antecedente trattamento con agente anti-VEGF (*ad es.*, aflibercept, una variante funzionale di esso, o un frammento funzionale di esso) per la malattia neovascolare oculare se è osservata una riduzione di $\geq 20\%$ (ad es. qualsiasi tra almeno il 20%, almeno il 30%, almeno il 40%, almeno il 50%, almeno il 60%, almeno il 70%, almeno l'80%, almeno il 90%, o il 100%) nello spessore del sottocampo centrale e/o spessore retinico centrale in qualsiasi tra almeno circa 5 giorni, almeno circa 6 giorni, almeno circa 7 giorni, almeno circa 8 giorni, almeno circa 9 giorni, almeno circa 10 giorni, almeno circa 11 giorni, almeno circa 12 giorni, almeno circa 13 giorni, almeno circa 14 giorni, almeno circa 15 giorni, almeno circa 16 giorni, almeno circa 17 giorni, o più, dopo una somministrazione dell'antecedente trattamento con un agente anti-VEGF, in confronto allo spessore del sottocampo centrale e/o spessore retinico centrale antecedentemente a una somministrazione dell'antecedente trattamento con un agente anti-VEGF. In alcuni casi, è determinato che l'individuo ha una risposta significativa a un antecedente trattamento con un agente anti-VEGF (*ad es.* aflibercept, una variante funzionale di esso, o un frammento funzionale di esso) per la malattia neovascolare oculare se è osservata una riduzione $\geq 20\%$ (ad es. qualsiasi tra almeno il 20%, almeno il 30%, almeno il 40%, almeno il 50%, almeno il 60%, almeno il 70%, almeno l'80%, almeno il 90%, o il 100%) nello spessore del sottocampo centrale e/o spessore retinico centrale circa 7 giorni,

circa 10 giorni, o circa 14 giorni dopo una somministrazione dell'antecedente trattamento con l'agente anti-VEGF, in confronto allo spessore del sottocampo centrale e/o spessore retinico centrale precedentemente a una somministrazione dell'antecedente trattamento con un agente anti-VEGF. In alcuni casi, lo spessore del sottocampo centrale e/o lo spessore retinico centrale è determinato mediante SD-OCT nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, è determinato che l'individuo ha una risposta significativa a un precedente trattamento con un agente anti-VEGF (ad es., aflibercept, una variante funzionale di esso, o un frammento funzionale di esso) per la malattia neovascolare oculare se è osservata una normalizzazione di CST con nessuna essudazione vascolare osservabile dopo il trattamento con anti-VEGF nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. La normalizzazione si riferisce a un valore di CST che è normale per quella classe di paziente (ad es. in base all'età, al sesso, ecc.)

In alcuni casi, è determinato che l'individuo ha una risposta significativa a un precedente trattamento con anti-VEGF (ad es. aflibercept, una variante funzionale di esso, o un frammento funzionale di esso) per la malattia neovascolare oculare se è osservata una riduzione $\geq 20\%$ (ad es. almeno il 20%, almeno il 30%, almeno il 40%, almeno il 50%, almeno il 60%, almeno il 70%, almeno l'80%, almeno il 90%, o il 100%) nello spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) in qualsiasi tra almeno circa 5 giorni, almeno circa 6 giorni, almeno circa 7 giorni, almeno circa 8 giorni, almeno circa 9 giorni, almeno circa 10 giorni, almeno circa 11 giorni, almeno circa 12 giorni, almeno circa 13 giorni, almeno circa 14 giorni, almeno circa 15 giorni, almeno circa 16 giorni, almeno circa 17 giorni, o più, dopo il trattamento

con anti-VEGF, in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) antecedentemente a una somministrazione del trattamento con anti-VEGF (ad es. aflibercept), come determinato mediante SD-OCT nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, è determinato che l'individuo ha una risposta significativa a un antecedente trattamento con anti-VEGF (ad es. aflibercept, una variante funzionale di esso, o un frammento funzionale di esso) per la malattia neovascolare oculare se è osservata una riduzione di $\geq 20\%$ (ad es. qualsiasi tra almeno il 20%, almeno il 30%, almeno il 40%, almeno il 50%, almeno il 60%, almeno il 70%, almeno l'80%, almeno il 90%, o il 100%) nello spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) circa 7 giorni, circa 10 giorni, o circa 14 giorni dopo il trattamento con anti-VEGF, in confronto allo spessore retinico centrale (CRT) o spessore del sottocampo centrale (CST) antecedentemente a una somministrazione del trattamento con anti-VEGF, come determinato mediante SD-OCT nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale.

In alcuni casi, l'individuo non ha ricevuto un trattamento antecedente per una malattia neovascolare oculare. In alcuni casi, l'individuo non ha ricevuto un trattamento antecedente nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale per una malattia neovascolare oculare. In alcuni casi, l'individuo non ha ricevuto un trattamento antecedente con anti-VEGF. In alcuni casi, l'individuo non ha ricevuto un trattamento antecedente con anti-VEGF nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale. In alcuni casi, l'individuo non ha ricevuto un trattamento antecedente con aflibercept. In alcuni casi, l'individuo non ha ricevuto un trattamento antecedente con aflibercept nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale.

In alcuni casi, la malattia o disturbo oculare trattato secondo i metodi descritti nel presente contesto è edema maculare diabetico. L'edema maculare diabetico (EMD) è un rigonfiamento della retina nel diabete mellito dovuto alla fuoriuscita di fluido dai vasi sanguigni all'interno della macula. La macula è la porzione centrale della retina, una piccola area ricca di coni, le terminazioni nervose specializzate che rilevano i colori e da cui dipende la vista diurna. Con lo sviluppo dell'edema maculare, avviene un offuscamento al centro o appena al lato del campo visivo centrale. La perdita della vista da edema maculare diabetico può progredire nel corso di mesi e rendere impossibile una messa a fuoco nitida. I sintomi comuni dell'EMD sono vista offuscata, corpi mobili, vista doppia e infine, se non viene trattato, cecità. In alcuni casi, per trattare EMD vengono usati i metodi e le composizioni farmaceutiche come divulgati nel presente contesto. In alcuni casi, un trattamento dell'EMD è accertato misurando la rifrazione o acuità visiva (ad es. BCVA usando lettere ETDRS). In alcuni casi, l'acuità visiva è misurata a partire da una distanza di circa 4 metri antecedentemente a dilatazione dell'occhio e/o dell'occhio controlaterale. In alcuni casi, si considera che l'acuità visiva sia mantenuta se l'individuo perde meno di 15 lettere nel punteggio ETDRS dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV in confronto ad antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, un trattamento di EMD è accertato mediante SD-OCT e/o OCT-A. In alcuni casi, un trattamento di EMD è accertato misurando lo spessore del sottocampo centrale e/o volume maculare usando SD-OCT. In alcuni casi, un trattamento di EMD è accertato mediante il numero di trattamenti con un agente anti-VEGF (ad es. aflibercept) somministrati dopo una somministrazione della dose unitaria di

particelle di rAAV (ad es. trattamenti di salvataggio con aflibercept). In alcuni casi, uno o più trattamenti di salvataggio con aflibercept sono somministrati dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV se si verifica un aumento dello spessore del sottocampo centrale (CST) di $> 50 \mu\text{m}$, accertato mediante SD-OCT, in confronto alla più bassa tra le due misurazioni di CST registrate precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV (ad es. il Giorno 1) e circa 3 settimane dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV (ad es. nella Settimana 4). In alcuni casi, uno o più trattamenti di salvataggio con aflibercept sono somministrati dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV se si verifica una perdita di > 5 lettere nella BCVA per via di un peggioramento dell'attività della malattia EMD in confronto alla più alta tra le due misurazioni di BCVA registrate precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV (ad es. il Giorno 1) e circa 3 settimane dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV (ad es. nella Settimana 4). In alcuni casi, un trattamento di EMD è accertato usando la Scala di gravità della retinopatia diabetica (DRSS), ad es. usando la fotografia a colori del fundus a campo ultra-ampio, in confronto alla DRSS precedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV. In alcuni casi, un trattamento di EMD è accertato mediante l'occorrenza di complicanze che minacciano la vista (ad es. neovascolarizzazione del segmento anteriore, edema maculare diabetico, sviluppo di PDR ad alto rischio, emorragia vitreale, o distacco retinico trazionale). In alcuni casi, le complicanze che minacciano la vista sono accertate mediante imaging in campo ultra ampio ed esame clinico. In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio

e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un miglioramento di 2 step o 3 step nella Scala di gravità della retinopatia diabetica (DRSS). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un miglioramento di 2 step nella Scala di gravità della retinopatia diabetica (DRSS). In alcuni casi, il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale dell'individuo dà come risultato un miglioramento di 3 step nella Scala di gravità della retinopatia diabetica (DRSS).

In alcuni casi, la malattia o disturbo oculare trattato secondo i metodi descritti nel presente contesto è un'occlusione venosa retinica. L'occlusione venosa retinica è un'ostruzione delle piccole vene che trasportano il sangue lontano dalla retina. La retina è lo strato di tessuto sul retro dell'occhio interno che converte le immagini luminose in segnali nervosi e li invia al cervello. L'occlusione venosa retinica è provocata più spesso dall'indurimento delle arterie (aterosclerosi) e dalla formazione di un coagulo di sangue. L'ostruzione delle vene più piccole (vene ramificate o BRVO) nella retina avviene spesso nei punti dove le arterie retiniche, che si sono ispessite o indurite mediante aterosclerosi, si incrociano ed esercitano pressione su una vena retinica. I sintomi dell'occlusione venosa retinica possono includere un improvviso offuscamento o perdita della vista in tutto o in parte di un occhio.

In alcuni casi, la malattia o disturbo oculare trattato secondo i metodi descritti nel presente contesto è la neovascolarizzazione coroideale (CNV), nota anche come degenerazione maculare legata all'età umida (wAMD). La neovascolarizzazione coroideale può implicare la crescita di nuovi vasi sanguigni che originano dalla coroide attraverso una rottura della membrana di

Bruch nell'epitelio pigmentato sottoretinico (sub-EPR) o nello spazio sottoretinico, il che può essere una delle principali cause di perdita della vista. La CNV può creare un improvviso deterioramento della vista centrale, evidente nel giro di poche settimane. Altri sintomi possono includere alterazioni del colore e metamorfopsia (distorsioni in cui le linee rette appaiono ondulate). L'emorragia dei nuovi vasi sanguigni può accelerare l'insorgenza dei sintomi della CNV. La CNV può anche includere una sensazione di pressione dietro l'occhio.

La forma avanzata "umida" (neovascolare o essudativa) della DMLE può di frequente provocare una rapida e spesso sostanziale perdita della vista centrale nei pazienti. Nella forma umida della DMLE, una neovascolarizzazione coroideale si forma e si sviluppa in una rete di vasi che possono crescere sotto e attraverso l'epitelio pigmentato retinico. Dato che questo è accompagnato da fuoriuscita di plasma e/o emorragia nello spazio sottoretinico, può esservi una grave perdita improvvisa della vista centrale se questa avviene nella macula. La presente divulgazione contempla trattamento o prevenzione di DMLE, DMLE umida. In alcuni casi, per trattare DMLE vengono usati i metodi e le composizioni farmaceutiche come divulgati nel presente contesto.

In alcuni casi, i metodi descritti nel presente contesto sono usati per prevenire o trattare una malattia o disturbo oculare in un soggetto che ha ricevuto un precedente trattamento con bevacizumab, brolocizumab, ranibizumab, faricimab, abicipar pegol, conbercept, OPT-302, KSI-301, sunitinib maleato iniettabile (GB-102), PAN-90806 (PanOptica), e/o aflibercept. In alcuni casi, i metodi descritti nel presente contesto sono usati per prevenire o trattare

una malattia o disturbo oculare che è responsivo a trattamento con bevacizumab, brolocizumab, ranibizumab, e/o aflibercept.

In alcuni casi, all'individuo è stata diagnosticata la malattia neovascolare oculare almeno 1 giorno, almeno 1 settimana, almeno 1 mese, almeno 2 mesi, almeno 4 mesi, almeno 6 mesi, almeno 12 mesi, almeno 18 mesi, almeno 24 mesi, almeno 30 mesi, almeno 36 mesi, almeno 42 mesi, almeno 48 mesi, almeno 54 mesi, almeno 60 mesi, almeno 66 mesi, almeno 72 mesi, almeno 78 mesi, almeno 84 mesi, almeno 90 mesi, 96 mesi, almeno 102 mesi, almeno 108 mesi, almeno 114 mesi, almeno 120 mesi, almeno 126 mesi, almeno 132 mesi, o più, antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale.

La seguente descrizione è presentata per permettere a un esperto dell'arte di realizzare e usare le varie forme di realizzazione. Descrizioni di dispositivi, tecniche e applicazioni specifiche sono fornite solo come esempi. Varie modifiche agli esempi descritti nel presente contesto sono prontamente evidenti agli esperti dell'arte. Dunque, le varie forme di realizzazione non sono intese essere limitate agli esempi descritti nel presente contesto e mostrati, ma a esse deve essere riconosciuto l'ambito coerentemente con le rivendicazioni.

Esempi

Esempio 1: uno studio di Fase 1 in aperto di AAV2.7m8-aflibercept nella degenerazione maculare legata all'età neovascolare (umida) a una dose di 6×10^{11} vg/occhio

Questo esempio descrive uno studio di Fase 1 in aperto di AAV2.7m8-aflibercept, un vettore rAAV contenente l'inibitore di VEGF aflibercept e il

capside proteico AAV2.7m8, per il trattamento di degenerazione maculare legata all'età (DMLE) con neovascolarizzazione coroideale (DMLE umida; wAMD).

I. Obiettivi dello studio

A. Obiettivo primario

L'obiettivo primario di questo studio è stato accertare la sicurezza e tollerabilità di una singola iniezione intravitreale (IVT) di AAV2.7m8-aflibercept in soggetti con wAMD.

Endpoint primari

Gli endpoint primari di questo studio sono stati il tipo, gravità e incidenza di eventi avversi (EA) oculari e sistemici.

B. Obiettivi secondari

Gli obiettivi secondari di questo studio sono stati:

- valutare l'effetto di AAV2.7m8-aflibercept sulla migliore acuità visiva corretta (BCVA).
- Valutare l'effetto di AAV2.7m8-aflibercept sullo spessore del sottocampo centrale (CST), noto anche come spessore retinico centrale (CRT).
- Accertare la necessità di terapia di salvataggio dalla Settimana 4 alla Settimana 104.

- Valutare l'effetto di AAV2.7m8-aflibercept sulla presenza di fluido intraretinico (IRF) e fluido sottoretinico (SRF).
- Valutare l'effetto di AAV2.7m8-aflibercept sulla risoluzione del distacco dell'epitelio pigmentato (PED) fra pazienti con un PED al basale.

Endpoint secondari

Gli endpoint secondari di questo studio erano:

- il cambiamento medio aritmetico della BCVA dal basale nel tempo, come accertato mediante lettere ETDRS nel tempo dal Giorno 8 alla Settimana 104, in confronto al basale.
- La percentuale di soggetti con un guadagno di BCVA di ≥ 15 lettere ETDRS dal basale nel tempo, come accertato dal Giorno 8 alla Settimana 104, in confronto al basale.
- La percentuale di soggetti con un declino della BCVA di ≤ 15 lettere ETDRS dal basale nel tempo, come accertato dal Giorno 8 alla Settimana 104, in confronto al basale.
- Il cambiamento medio aritmetico di CST e volume maculare dal Basale nel tempo, come accertato dal Giorno 8 alla Settimana 104, in confronto al basale.
- Il numero medio aritmetico di iniezioni di aflibercept nel tempo, come accertato dalle Settimane 4-104.

- La percentuale di soggetti che richiedono iniezioni di aflibercept nel tempo, come accertato dalle Settimane 4-104.
- La percentuale di soggetti senza IRF nel tempo, come accertato dal Giorno 8 alla Settimana 104.
- La percentuale di soggetti senza SRF nel tempo, come accertato dal Giorno 8 alla Settimana 104.
- La percentuale di soggetti senza un PED nel tempo, come accertato dal Giorno 8 alla Settimana 104 fra soggetti con un PED al basale.

II. Soggetti dello studio

Ai soggetti di questo studio è stata diagnosticata neovascolarizzazione coroideale (CNV) attiva secondaria a degenerazione maculare legata all'età (DMLE), avevano una storia di recente responsività a trattamento con anti-VEGF, e richiedevano frequenti iniezioni di terapia con anti-VEGF.

Per la durata dello studio è stato selezionato solo un occhio come occhio dello studio. Se entrambi gli occhi soddisfacevano tutti i criteri di inclusione ed esclusione, l'occhio con la peggiore BCVA accertata allo Screening veniva selezionato come occhio di studio. Se entrambi gli occhi soddisfacevano tutti i criteri di inclusione ed esclusione e i valori di BCVA erano identici per entrambi gli occhi, il soggetto decideva di selezionare il proprio occhio non dominante per il trattamento, oppure, per impostazione predefinita, l'occhio destro veniva selezionato come occhio di studio.

A. Criteri di inclusione

Sono stati arruolati in questo studio soggetti che soddisfacevano i seguenti criteri di inclusione:

- soggetti di sesso maschile o femminile, di età ≥ 50 anni.
- L'occhio di studio aveva evidenza antecedente o attuale di CNV subfoveale attiva secondaria a DMLE che occupava $\geq 50\%$ della grandezza totale della lesione con:
 - perdita all'angiogramma con fluoresceina (FA), fluido alla tomografia a coerenza ottica a dominio spettrale (SD-OCT) o emorragia sottoretinica alla fotografia a colori del fundus; e
 - l'intera dimensione della lesione non eccedeva 12 aree del disco dello Studio di fotocoagulazione maculare.
- I soggetti erano sotto trattamento con anti-VEGF attivo per wAMD con un minimo di 2 iniezioni entro i 4 mesi antecedenti lo Screening.
- Vista dell'occhio di studio alla visita di Screening (antecedentemente a iniezione di aflibercept):
 - BCVA ETDRS di 78-25.
- Vista dell'occhio non di studio:
 - BCVA ETDRS di ≥ 35 .
- Dimostrava una risposta ad anti-VEGF significativa come confermato dallo Sperimentatore e definita come:

- riduzione dalla diagnosi iniziale dello spessore del sottocampo centrale di $\geq 30\%$ come accertato usando SD-OCT; oppure
- riduzione dallo screening dello spessore del sottocampo centrale di $\geq 20\%$ come accertato usando SD-OCT; oppure
- normalizzazione del CST con nessuna essudazione vascolare osservabile.

La responsività a VEGF è stata confermata dallo Sperimentatore per scopi di conferma della risposta ad anti-VEGF alla visita del Giorno 1 antecedentemente a dosaggio con AAV2.7m8-aflibercept. I soggetti determinati come aventi una risposta ad anti-VEGF significativa non hanno superato lo screening e non sono stati arruolati in questo studio.

B. Criteri di esclusione

I soggetti che soddisfacevano i seguenti criteri di esclusione non sono stati arruolati in questo studio:

Anticorpi neutralizzanti

- Sebbene non vi sia una correlazione stabilita tra i livelli di anticorpi neutralizzanti (NAb) contro gli AAV nel siero e nell'umor vitreo (Lukason et al., (2011) Mol Ther 19(2):260-265), i soggetti sono stati sottoposti a screening per i NAb verso il vettore AAV2.7m8 come precauzione. Soggetti con livelli di titolo di anticorpo neutralizzante anti-AAV2.7m8 documentati $> 1:125$ entro 6 mesi antecedentemente a un dosaggio con AAV2.7m8-aflibercept sono stati esclusi da questo studio.

Lesione CNV

- Storia nota o evidenza delle seguenti caratteristiche della lesione CNV:

- fibrosi o atrofia, strappo epiteliale retinico al centro della fovea nell'occhio di studio, o qualsiasi condizione che prevenga un miglioramento dell'acuità visiva.

- Formazione di cicatrici o fibrosi che costituisce > 50% dell'area totale della lesione.

- Grandezza della lesione > 12 aree del disco dello Studio di fotocoagulazione maculare (30,5 mm²), inclusi sangue, cicatrici e neovascolarizzazione come accertato mediante angiografia con fluoresceina (FA).

- Emorragia sottoretinica che era ≥ 50% dell'area totale della lesione, o presenza di sangue sotto la fovea che era di grandezza di ≥ 1 area del disco nell'occhio di studio (se il sangue era sotto la fovea, allora la fovea era circondata a 270 gradi da CNV visibile).

Condizioni oculari (retina/occhio posteriore)

- Membrana epiretinica significativa o sindrome da trazione vitreomaculare (VMT, VitreoMacular Traction) nell'occhio di studio al tempo del dosaggio con AAV2.7m8-aflibercept o storia di foro maculare a pieno spessore (stadio Gass 2 e oltre) nell'occhio di studio.

- Storia di malattia retinica nell'occhio di studio diversa da wAMD, incluse retinopatia diabetica (nell'uno o l'altro degli occhi), occlusione venosa retinica, uveite, sospetta proliferazione angiomatosa retinica, corioidopatia polipoidale o CNV dovuta ad altre cause (ad es. istoplasmosi oculare, trauma o miopia patologica), o qualsiasi altra malattia vascolare nell'occhio (le condizioni benigne del vitreo o della retina periferica non erano criteri di esclusione).
- Anamnesi di distacco retinico (con o senza riparazione) nell'occhio di studio.

Altre condizioni (non retiniche)

- Storia nota o evidenza di malattia non retinica significativa od opacità del mezzo nell'occhio di studio che possa avere compromesso la vista durante il corso dello studio, richiesto un intervento chirurgico e/o precluso una corretta visualizzazione o imaging della retina (ad es. formazione di cicatrice corneale centrale, cataratta significativa, distrofia corneale, scleromalacia).
- Ipertensione oculare incontrollata o glaucoma nell'occhio di studio al momento della dosaggio con AAV2.7m8-aflibercept (definita come pressione intraoculare [IOP] > 22 mmHg nonostante trattamento con medicinale anti-glaucoma) o uso di > 2 medicinali di abbassamento della IOP al momento dello screening.
- Infezione oculare o perioculare attiva o pregressa in uno dei due occhi entro 4 settimane antecedentemente a dosaggio con AAV2.7m8-aflibercept.

Interventi chirurgici/procedure oculari

- Qualsiasi previo intervento chirurgico intraoculare o perioculare sull'occhio di studio entro 6 mesi dal dosaggio con AAV2.7m8-aflibercept, o qualsiasi procedura chirurgica maggiore pianificata entro 6 mesi dal dosaggio con AAV2.7m8-aflibercept. Un intervento chirurgico alla palpebra > 1 mese di dosaggio di AAV2.7m8-aflibercept non è stato un criterio di esclusione.
- Storia di vitrectomia, trabeculectomia o altro intervento di chirurgia filtrante nell'occhio di studio.
- Capsulotomia posteriore con granato di ittrio e alluminio (YAG) entro 3 mesi antecedentemente a dosaggio con AAV2. 7m8-aflibercept.
- Qualsiasi trattamento antecedente con terapia fotodinamica o laser retinico per il trattamento di wAMD e qualsiasi previa radiazione terapeutica nella regione dell'occhio di studio.

Condizioni generali/sistemiche

- Storia o evidenza di qualsiasi tra le seguenti malattie cardiovascolari entro 6 mesi dal dosaggio salvo specificato:
 - malattia cardiaca grave (ad es. classe funzionale III o IV della New York Heart Association [NYHA]), storia o evidenza clinica di angina instabile.
 - Sindrome coronarica acuta, infarto miocardico o rivascolarizzazione dell'arteria coronaria.

- Tachiaritmie ventricolari che richiedono trattamento continuativo, o aritmia non controllata.
- Ipertensione incontrollata definita come pressione sanguigna sistolica (SBP, Systolic Blood Pressure) media ≥ 160 mmHg o pressione sanguigna diastolica (DBP, Diastolic Blood Pressure) media ≥ 100 mmHg, nonostante l'uso di medicinale di abbassamento della pressione sanguigna durante il periodo di screening antecedentemente al dosaggio.
- Storia di accidente cerebrovascolare o attacco ischemico transitorio.
- Qualsiasi storia di disturbi di sanguinamento in corso o rapporto internazionale normalizzato (INR, International Normalized Ratio) $>3,0$. L'uso di aspirina o di altri anticoagulanti (ad es. inibitori del Fattore Xa) non è stato un criterio di esclusione. L'INR è stato ripetuto durante il periodo di Screening per confermare che i criteri di eleggibilità fossero soddisfatti.
- Evidenza di diabete non controllato con HbA1c $>7,0\%$ entro il periodo di screening antecedentemente a dosaggio con AAV2.7m8-aflibercept.
- Storia di tumore maligno negli ultimi 5 anni a eccezione dei seguenti, se adeguatamente trattati:
 - carcinoma basocellulare locale o a cellule squamose della pelle.
 - Carcinoma *in situ* della cervice o mammella.
 - Carcinoma papillare non invasivo della vescica.

- Cancro della prostata di Stadio 1 e 2 per il quale l'osservazione è stata clinicamente indicata con antigene prostatico specifico (PSA, Prostate-Specific Antigen) stabile per 6 mesi.
- Qualsiasi altro cancro che fosse in completa remissione per almeno 2 anni o considerato guarito chirurgicamente.
- Positivo a HIV, epatite B o epatite C (salvo trattato con cura documentata).
- Entro 36 ore antecedentemente a dosaggio con AAV2.7m8-aflibercept, evidenza o sospetto di infezione attiva sistemica di qualsiasi tipo giudicata clinicamente significativa dallo Sperimentatore in base a esame clinico e/o temperatura >38,5 °C.
- Allergie serie note a:
 - tintura a base di fluoresceina o fluoresceina sodica usata in angiografia (era ammessa un'allergia lieve suscettibile di trattamento); oppure
 - aflibercept.
- Donne che erano in gravidanza, allattamento o che intendono rimanere incinte durante lo studio.
- Altre significative anomalie di laboratorio o condizioni mediche che, a giudizio dello Sperimentatore, compromettevano la sicurezza del soggetto.

Medicinali

- Uso di steroidi antinfiammatori sistemici o medicinali immunosoppressori (diversi dal prednisone specificato dal protocollo) entro 5 emivite antecedentemente a dosaggio con AAV2.7m8-aflibercept. Sono stati permessi steroidi per via inalatoria o topica e farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS).

- Ricevuto qualsiasi dei seguenti:
 - prodotto medicinale di indagine entro 30 giorni o 5 emivite antecedentemente a dosaggio con AAV2.7m8-aflibercept, a seconda di quale sia il periodo più lungo.
 - Terapia genica antecedente.

III. Prodotto medicinale di indagine

Il prodotto medicinale di indagine (IMP, Investigational Medicinal Product), AAV2.7m8-aflibercept, era un vettore virale adeno-associato ricombinante (rAAV) carente di replicazione contenente il capsido della proteina AAV2.7m8 derivato mediante evoluzione diretta *in vivo* sul capsido di AAV2 (Dalkara et al., (2013) Sci Transl Med 5(189):189ra76; US2014/0364338). AAV2.7m8-aflibercept recava una cassetta di espressione di una versione ottimizzata per codone del cDNA di aflibercept sotto il controllo di un promotore chimerico ubiquitario (FIG. 1A) (*si veda* WO2018170473A1). AAV2.7m8-aflibercept è stato fabbricato usando un sistema di vettore di espressione di baculovirus in cellule Sf9, ove sono stati usati due differenti baculovirus, uno codificante i geni per le proteine AAV2 Rep e AAV2.7m8 Cap, e l'altro codificante la cassetta di espressione di cDNA di aflibercept umano.

AAV2.7m8-aflibercept è stato rifornito come sospensione congelata filtrata sterile in una fiala Crystal Zenith sterile pronta all'uso da 0,5 ml che conteneva 0,25 ml di IMP, formulato come mostrato nella **Tabella 1**.

Tabella 1: formulazione del prodotto medicinale di indagine AAV2.7m8-aflibercept per la Coorte 1

Formulazione (pH 7,3)		
Componenti	Concentrazione	Funzione
AAV2.7m8-aflibercept	6×10^{12} vg/ml	Ingrediente attivo
Cloruro di sodio	180 mM	Agente di forza osmotica/ionica
Fosfato di sodio monobasico	5 mM	Agente tamponante
Fosfato di sodio dibasico	5 mM	Agente tamponante
Polossamero 188	0,001% (p/v)	Tensioattivo
Acqua per iniezione	Quantum satis (Q.B.)	Solvente
Volume di iniezione	100 μ l	

IV. Disegno dello studio

A. Dose e metodo di somministrazione

Coorte 1

Ai soggetti della Coorte 1 è stata somministrata una singola iniezione IVT di AAV2.7m8-aflibercept a una Dose 1 di 6×10^{11} vg/occhio in un volume di iniezione di 100 μ l.

Fiale di AAV2.7m8-aflibercept sono state rimosse dallo stoccaggio congelato a ≤ -60 °C e scongelate a temperatura ambiente. AAV2.7m8-aflibercept è stato somministrato tramite iniezione IVT. È stata impiegata una tecnica asettica con povidone-iodio, unitamente ad anestesia topica o sottocongiuntivale. La cura post-iniezione e il regime di medicinali sono stati dati in base allo standard di cura istituzionale.

B. Visite di studio

Screening (Giorni da -15 a -7)

Come mostrato nella **FIG. 1B**, i soggetti hanno ricevuto una singola iniezione IVT di 2 mg di aflibercept durante lo Screening nei Giorni da -15 a -7 (ad es. Giorni da -14 a -7), coerentemente con lo standard di cura. I soggetti hanno ricevuto una cura post-iniezione standard istituzionale di routine.

Giorno di studio 1

Il Giorno 1 dello Studio (tra 7 e 15 giorni, ad es. tra 7 e 14 giorni, dopo l'iniezione IVT di aflibercept), i soggetti di studio sono stati sottoposti a studi SD-OCT per confermare che erano responsivi a terapia con anti-VEGF, precedentemente a dosaggio con AAV2.7m8-aflibercept. La responsività ad anti-VEGF è stata confermata dallo Sperimentatore. Solo i soggetti confermati come aventi una risposta ad anti-VEGF significativa, come descritto sopra (*si veda* Criteri di inclusione), erano eleggibili all'arruolamento in questo studio.

I soggetti responsivi a terapia con anti-VEGF sono stati arruolati in sequenza nella coorte di studio e hanno ricevuto una singola iniezione IVT di AAV2.7m8-aflibercept nell'occhio di studio. Come descritto sopra, solo un occhio è stato selezionato come occhio di studio per la durata dello studio.

Post-somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept

I soggetti sono tornati nei Giorni 3 e 8, durante le Settimane 2, 4, 6 e 8, e successivamente ogni 4 settimane (*cioè* le settimane 12, 16, 20 e 24) per valutazione clinica e trattamento (se necessario). Un'analisi di sicurezza ed efficacia della Coorte 1 è stata svolta alla Settimana 24.

A partire dalla Settimana 4, i soggetti erano eleggibili per ricevere iniezioni di salvataggio di 2 mg di aflibercept IVT se vi era evidenza di aumentata attività di malattia secondo i criteri di ritrattamento (si veda nel seguito). La presenza di uno qualsiasi dei seguenti ha giustificato la ripresa di un trattamento con anti-VEGF standard con 2 mg IVT di aflibercept:

- perdita di ≥ 10 lettere nella BCVA (usando il protocollo ETDRS) dal Basale e fluido intraretinico o sottoretinico osservato mediante SD-OCT e giudicato dallo Sperimentatore come causa della perdita di BCVA.
- Un aumento di spessore del sottocampo centrale $> 75 \mu\text{m}$ dal Basale come accertato mediante SD-OCT.
- Presenza di emorragia che minaccia la vista dovuta a degenerazione maculare.

I soggetti sono valutati di nuovo la settimana 52 in seguito a somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept per sicurezza ed efficacia. Il periodo di follow-up continua fino alla settimana 104 in seguito alla somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept.

C. Regime di corticosteroidi

Per ridurre il possibile rischio di infiammazione oculare post-iniezione, ai soggetti è stato somministrato un regime di corticosteroide profilattico (*ad es.* prednisone) e sono stati monitorati attentamente per tollerabilità oculare e sistemica del vettore.

Ai soggetti nella Coorte 1 è stato somministrato un regime profilattico di corticosteroide orale di 13 giorni, iniziando con 60 mg/giorno di prednisone da 3 giorni prima (giorno -3) a 3 giorni dopo un trattamento con AAV2.7m8-aflibercept per un totale di 6 giorni. Questo è stato seguito da una riduzione progressiva di prednisone di 7 giorni. Un sommario del regime di prednisone orale è fornito nella **Tabella 2**.

Tabella 2: regime di prednisone orale

Giorni di studio	Numero totale di giorni	Dose di prednisone al giorno
Giorni da -3 a +3	6	60 mg
Giorni 4-6	3	40 mg
Giorni 7-8	2	20 mg
Giorni 9-10	2	10 mg
Giorno 11	0	STOP

L'avvio di immunosoppressione (*cioè*, prednisone) antecedentemente a iniezione IVT di AAV2.7m8-aflibercept è stato progettato per limitare la risposta immunitaria all'esposizione ad antigeni del capsido. I soggetti si sono auto-somministrati prednisone per il regime di 13 giorni.

I soggetti hanno ricevuto corticosteroidi (prednisone) topici od orali secondo necessità durante le settimane 2-24 dello studio.

D. Medicinali e trattamenti proibiti

Durante lo studio sono stati proibiti i seguenti medicinali:

- qualsiasi agente anti-VEGF sistemico, incluso bevacizumab.
- Qualsiasi agente anti-VEGF nell'occhio di studio diverso dal farmaco di studio o iniezione di aflibercept 2 mg, secondo i criteri di iniezione di anti-VEGF di salvataggio in questo studio.
- Steroidi IVT nell'occhio di studio.
- Farmaci immunosoppressivi. Sono stati consentiti steroidi sistemici, inalatori o topici e FANS.
- Uso di e partecipazione a qualsiasi altro studio di indagine.
- Una chirurgia della cataratta nell'occhio di studio poteva essere svolta se clinicamente indicato ed era pianificata > 90 giorni dopo una somministrazione IVT e/o >7 giorni dopo l'ultima iniezione di aflibercept.

- I soggetti che hanno sviluppato DMLE nell'occhio non di studio potevano ricevere terapia standard di cura nell'occhio non di studio.

E. Sommario del disegno di studio per la Coorte 1

Sei soggetti sono stati arruolati nella Coorte 1.

Ai soggetti nella Coorte 1 è stata somministrata una singola iniezione IVT di AAV2.7m8-aflibercept a una Dose 1 di 6×10^{11} vg/occhio. Il primo soggetto (sentinella) arruolato nella Coorte 1 ha ricevuto un'iniezione IVT di AAV2.7m8-aflibercept ed è stato valutato per 29 giorni antecedentemente al dosaggio ai susseguenti 5 soggetti (Soggetti 2-6) all'interno della coorte.

Un sommario del disegno di studio per la Coorte 1 è fornito nella **Tabella 3**.

Tabella 3: sommario del disegno di studio per la Coorte 1

Coorte	Dose di AAV2.7m8-aflibercept	Regime di corticosteroidi
Coorte 1	6×10^{11} vg/occhio	Regime profilattico di prednisone orale.

F. Durata di studio

La durata della partecipazione del soggetto allo studio è di approssimativamente 108 settimane per ciascun soggetto. Ciò include un periodo di screening di 4 settimane e un periodo di studio aggiuntivo di 104 settimane.

Al completamento o all'interruzione dello studio, se appropriato, ai soggetti è offerta l'opportunità di arruolarsi in uno studio di follow-up a lungo termine per accertare ulteriormente la sicurezza di questa terapia genica.

V. Accertamenti di studio

A. Esame fisico generale e segni vitali

È stata raccolta e registrata la storia medica e oftalmica pertinente di ciascun soggetto. Un esame fisico generale consisteva in altezza (solo allo Screening), peso corporeo, e segni vitali.

I segni vitali consistevano nella pressione sanguigna, misurazioni della frequenza delle pulsazioni, temperatura corporea e cadenza respiratoria. Per ciascun soggetto è stato preso un elettrocardiogramma (ECG) a 12 derivazioni. Sono state svolte le seguenti prove cliniche di laboratorio e anticorpali: chimica, emocromo completo (CBC, Complete Blood Count), studi di coagulazione, analisi delle urine, evidenza sierologica per HIV o epatite, e test di gravidanza.

Alla visita della Settimana 104, di fine studio (EOS) e/o di terminazione anticipata, un esame fisico accerta se si siano verificati cambiamenti nella condizione fisica del soggetto dal momento dell'esame di Screening.

B. Risposta immunitaria ed espressione di aflibercept

Sono stati misurati gli anticorpi anti-AAV2.7m8 totali. Gli anticorpi anti-AAV2.7m8 neutralizzanti nel siero del soggetto sono stati determinati usando un saggio di interferenza di trasduzione basato su gene reporter accertato mediante punto di taglio.

La risposta immunitaria umorale contro anticorpi anti-aflibercept è stata misurata nel siero usando un saggio di anticorpi con punto di taglio basato su ELISA.

Il siero è stato raccolto per determinare la presenza della proteina aflibercept.

L'immunità cellulare contro proteine del capsido AAV2.7m8 e la proteina aflibercept è stata misurata usando un saggio ELISPOT.

C. Esame oftalmico pieno e altri metodi di accertamento

Gli accertamenti di studio includevano un esame oftalmologico, pressione intraoculare (IOP) e oftalmoscopia indiretta.

L'esame oftalmico consisteva in un esame esterno dell'occhio e degli annessi, uno screening di routine per la responsività delle palpebre/pupille (inclusi, ma non limitati a, blefaroptosi, sagoma anomala della pupilla, pupille disuguali, reazione anomala alla luce e difetto pupillare afferente) ed esame con lampada a fessura (palpebre, congiuntiva, cornea, cristallino, iride, camera anteriore). L'esame con lampada a fessura ha esaminato le strutture oculari anteriori ed è stato usato per l'assegnazione di punteggio a qualsiasi riscontro. Se qualsiasi riscontro veniva notato durante l'esame con lampada a fessura, in qualsiasi visita, la gravità otteneva un punteggio dallo Sperimentatore e il riscontro veniva descritto come clinicamente significativo o non clinicamente significativo.

Le misurazioni della IOP sono state svolte usando un tonometro ad applanazione di Goldmann o Tonopen™. Le misurazioni della IOP sono state

svolte antecedentemente a qualsiasi iniezione IVT e antecedentemente a dilatazione degli occhi. La visita del Giorno 1 richiedeva misurazioni della IOP pre-iniezione e post-iniezione (30 minuti dopo l'iniezione).

L'esame di oftalmoscopia indiretta dilatata includeva una valutazione di anomalie del segmento posteriore del vitreo, nervo ottico, retina periferica, e vascolarizzazione retinica. Se qualsiasi riscontro veniva notato durante l'oftalmoscopia, in qualsiasi visita, la gravità otteneva un punteggio dallo Sperimentatore e il riscontro veniva descritto come clinicamente significativo o non clinicamente significativo. La visita del Giorno 1 richiedeva accertamenti di oftalmoscopia indiretta pre-iniezione e post-iniezione.

Tomografia a coerenza ottica a dominio spettrale (SD-OCT)

SD-OCT è stata usata per ottenere informazioni sulla struttura dei tessuti risolte in profondità codificate nell'ampiezza e nel ritardo della luce retrodiffusa mediante analisi spettrale del motivo di frange di interferenza.

Angiografia con fluoresceina

Le immagini di angiografia con fluoresceina sono state usate per confermare l'eleggibilità dei pazienti all'arruolamento nello studio, per accertare l'efficacia della crescita della lesione da CNV, e per valutare la fuoriuscita in confronto al Basale.

Fotografia digitale a colori del fundus

Sono state prese immagini a colori del fundus della retina, disco ottico e macula.

Angiografia a tomografia a coerenza ottica (OCT-A)

Un imaging OCT-A (swept-source o dominio spettrale) è stato usato per ottenere mappe tridimensionali volumetriche della retina e della coroide, come anche informazioni sul flusso sanguigno.

Rifrazione e acuità visiva

Rifrazione e BCVA sono state misurate da un esaminatore dell'acuità visiva formato e certificato presso i siti di studio. L'acuità visiva è stata misurata a una distanza di partenza di 4 metri, antecedentemente alla dilatazione degli occhi.

D. Accertamenti di sicurezza

Per mitigare i rischi associati alla somministrazione IVT di AAV2.7m8-afibercept, i soggetti sono stati attentamente monitorati il giorno della somministrazione IVT di AAV2.7m8-afibercept e successivamente post-trattamento.

La sicurezza di AAV2.7m8-afibercept è stata accertata attraverso la raccolta di EA, segni vitali, esami fisici e degli occhi, ECG, test di gravidanza e valutazioni di laboratorio.

Un intenso monitoraggio dei soggetti è stato fatto nelle prime 8 settimane dello studio, seguito da regolari accertamenti di sicurezza per la sicurezza e l'efficacia successivamente. Tutti i soggetti sono stati sottoposti a prova dell'acuità visiva mediante accertamenti con lettere dello studio Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) ad ogni visita di studio, e

iniezioni IVT di aflibercept standard di cura sono state usate come trattamento di salvataggio.

La gravità, o intensità, di un EA è stata valutata sulla seguente scala:

- lieve: l'EA era evidente ma non ha compromesso significativamente le attività quotidiane del soggetto.
- Moderato: l'EA ha ridotto o compromesso la normale attività quotidiana ma non è stato invalidante.
- Grave: l'EA è stato invalidante e ha dato come risultato l'incapacità di svolgere una normale attività quotidiana.

La sicurezza è accertata per 104 settimane post-somministrazione del trattamento di studio. Al completamento della visita di fine studio (EOS), ai soggetti è offerto l'arruolamento in uno studio di estensione a lungo termine per accertare ulteriormente la sicurezza e durabilità dell'espressione del transgene.

E. Accertamenti di efficacia

L'efficacia di AAV2.7m8-aflibercept nel trattamento di wAMD è stata accertata mediante le seguenti misure. Un punto temporale chiave di accertamento è stato a 24 settimane. I valori basali di BCVA e SD-OCT si riferiscono ai valori presi durante la visita di screening nei Giorni da -15 a -7 (ad es. Giorni da -14 a -7) antecedentemente a iniezione di aflibercept. I valori basali sono stati usati per il confronto per l'analisi.

La vista è stata accertata principalmente attraverso la BCVA espressa come punteggio ETDRS (numero di lettere lette correttamente) (Vitale et al.,

(2016) JAMA Ophthalmol 134(9):1041-1047). Il mantenimento della vista veniva classificato se il soggetto perdeva meno di 15 lettere nel punteggio ETDRS rispetto al Basale. Gli endpoint calcolati includevano il cambiamento medio aritmetico dal Basale, la percentuale di guadagno di almeno 15 lettere in confronto al Basale, e la percentuale di perdita di 15 o più lettere in confronto al Basale.

Una FA è stata svolta per accertare lesioni da CNV usando una tecnica standard per valutare la fuoriuscita in confronto al Basale.

La SD-OCT è stata svolta usando apparecchiature approvate e tecniche standard per valutare lo spessore retinico (ad es. spessore retinico centrale o spessore del sottocampo centrale), volume maculare e presenza di fluido (ad es. fluido sottoretinico e fluido intraretinico) in confronto ai valori al basale.

È stato determinato il numero di iniezioni di aflibercept date post-trattamento con AAV2.7m8-aflibercept per soggetto, nel tempo, dalla Settimana 4 alla Settimana 104. In aggiunta, sono stati determinati il tempo alla prima iniezione di aflibercept post-trattamento con AAV2.7m8-aflibercept e la proporzione di soggetti che non hanno richiesto un trattamento di salvataggio con aflibercept.

La proporzione di soggetti senza IRF nel tempo dalla settimana 4 alla settimana 104 è stata determinata.

La proporzione di soggetti senza SRF nel tempo dalla settimana 4 alla settimana 104 è stata determinata.

La proporzione di soggetti senza un PED nel tempo dalla settimana 4 alla settimana 104 fra soggetti con un PED al basale è stata determinata.

F. Statistiche

La popolazione di sicurezza includeva tutti i soggetti che avevano ricevuto AAV2.7m8-aflibercept ed erano stati analizzati secondo la dose ricevuta.

Tutti gli altri parametri di sicurezza sono stati sintetizzati per coorte. Gli EA sono stati codificati usando la classificazione Medical Dictionary for Regulatory Activities (MedDRA, versione 21) per dare un termine preferito (PT, Preferred Term) e una classificazione sistemica organica (SOC, System Organ Class) a ciascun evento. Gli SAE e gli EA che hanno portato al ritiro dallo studio sono stati elencati separatamente.

Le analisi di efficacia hanno incluso tutti i soggetti. Gli endpoint dell'analisi di efficacia sono stati valutati e le statistiche descrittive sono calcolate per coorte. Il punto temporale chiave di accertamento è stato a 24 settimane. L'efficacia è stata accertata in base alla dose ricevuta e in aggregato.

VI. Risultati

A. Caratteristiche del soggetto

A tutti e sei i soggetti arruolati nella Coorte 1 è stata diagnosticata wAMD. Al momento dell'arruolamento, i soggetti avevano un'alta richiesta di trattamento con anti-VEGF (ad es. richiedevano un frequente trattamento con

anti-VEGF), vista funzionale intorno a 20/50, un qualche eccesso di spessore del sottocampo centrale all'OCT, e venivano sottoposti a regolari iniezioni IVT di trattamento con anti-VEGF e rispondevano alla terapia. Le caratteristiche della malattia e le storie di trattamento per tutti i soggetti sono fornite nelle **Tabelle 4-5**.

Come mostrato nella **Tabella 4**, ai soggetti della Coorte 1 è stata diagnosticata wAMD tra approssimativamente un anno (Soggetto 5) e approssimativamente un decennio o più (Soggetto 4) antecedentemente a una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept. I soggetti avevano ricevuto un ampio range di antecedenti iniezioni IVT di anti-VEGF nell'occhio di studio, da 7 (Soggetto 5) a 109 (Soggetto 4) iniezioni antecedenti. L'intervallo medio calcolato di iniezione IVT di anti-VEGF antecedentemente a questo studio oscillava da ogni 4 settimane a ogni 10 settimane. Tutti i soggetti hanno ricevuto 2 o 3 iniezioni di anti-VEGF nei quattro mesi antecedenti lo screening per l'arruolamento in questo studio. Ai soggetti è stato somministrato AAV2.7m8-aflibercept 7 giorni (Soggetti 1-3) o 14 giorni (Soggetti 4-6) dopo l'iniezione di Screening anti-VEGF antecedentemente all'inizio dello studio.

Tabella 4: caratteristiche basali di soggetti nella Coorte 1

Caratteristica	Valore
Età media aritmetica, anni	79,0
Tempo medio aritmetico dalla diagnosi di nAMD, anni	3,3
Numero medio aritmetico di iniezioni di anti-VEGF dalla diagnosi iniziale (range)	35,3 (7-109)

Caratteristica	Valore
Numero medio aritmetico di iniezioni di anti-VEGF nei 4 mesi antecedenti lo screening	2,8
Numero medio aritmetico di iniezioni di anti-VEGF negli 8 mesi antecedenti lo screening	6,2
Numero medio aritmetico di iniezioni di anti-VEGF nei 12 mesi antecedenti lo screening	9,2
Frequenza media annualizzata di iniezione	9,3
BCVA basale nell'occhio di studio (lettere ETDRS), media aritmetica Equivalente di Snellen approssimativo	65,8 20/50
CST medio aritmetico al basale dell'occhio di studio, μm	369,2

Tabella 5: caratteristiche della malattia e storie di trattamento dei soggetti di studio nella Coorte 1

	Soggetto 1	Soggetto 2	Soggetto 3	Soggetto 4	Soggetto 5	Soggetto 6
Età	76 anni	83 anni	87 anni	62 anni	88 anni	77 anni
Genere	Maschio	Maschio	Maschio	Maschio	Maschio	Femmina
Tempo tra la diagnosi di DMLE neovascolare e l'iniezione IVT di AAV2.7m8-aflibercept:	2,3 anni	1,1 anni	1,2 anni	11,0 anni	1,0 anni	7,0 anni

	Soggetto 1	Soggetto 2	Soggetto 3	Soggetto 4	Soggetto 5	Soggetto 6
Numero di iniezioni di anti-VEGF antecedenti nell'occhio di studio:	18	9	29	109	7	8
Media calcolata dell'intervallo di iniezione di anti-VEGF pre-studio:	5-7 settimane	4-10 settimane	4-7 settimane	4-6 settimane	4-7 settimane	4-6 settimane
Numero di iniezioni di anti-VEGF ricevute nei 4 mesi antecedenti lo screening:	3	2	3	3	2	4
Numero di iniezioni di anti-VEGF ricevute negli 8 mesi antecedenti lo screening:	5	6	6	6	6	8
Frequenza di iniezione annualizzata media	7,5	9	9	9	9	12
Giorni tra iniezione IVT di aflibercept di Screening e iniezione IVT di	7 giorni	7 giorni	7 giorni	14 giorni	14 giorni	10 giorni

	Soggetto 1	Soggetto 2	Soggetto 3	Soggetto 4	Soggetto 5	Soggetto 6
AAV2.7m8- aflibercept:						

B. Sicurezza

Durante le 24 settimane seguenti la somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept, non si sono verificati SAE, né vi sono stati EA che soddisfacessero i criteri per la tossicità limitante la dose (DLT, Dose Limiting Toxicity). Non sono stati osservati EA non oculari correlati al farmaco. Un'inflammatione oculare è stata osservata in tutti i soggetti, ed è stata gestibile con steroidi topici. In aggiunta, non sono state osservate vasculite, retinite o coroidite. Sono stati osservati diciannove EA oculari che sono stati considerati potenzialmente correlati ad AAV2.7m8-aflibercept; 14 erano lievi e 5 erano moderati (2 EA erano uveite intermedia, 1 EA era cellule vitreali, 2 EA erano cellule nella camera anteriore). Un paziente ha avuto due eventi di cellule nella camera anteriore (un evento lieve e un evento moderato). Durante il follow-up precoce, un'inflammatione intraoculare da lieve a moderata, responsiva a corticosteroidi topici o orali, è stata frequentemente osservata. Le immagini OCT hanno mostrato risoluzione di fluido persistente nella maggior parte dei soggetti, con nessun segno di peggioramento. L'acuità visiva era generalmente stabile. Un sommario di tutti gli eventi di sicurezza che sono stati correlati ad AAV2.7m8-aflibercept fino a 24 settimane è fornito nella Tabella 6.

Tabella 6: tutti gli eventi di sicurezza correlati ad AAV2.7m8-aflibercept.

EA oculari correlati ad AAV2.7m8-aflibercept	N. di pazienti, n	Numero di eventi, n						
		Paziente 1	Paziente 2	Paziente 3	Paziente 4	Paziente 5	Paziente 6	Totale
Cellule di camera anteriore	3	0	1	0	1*	0	2‡	4
Flare della CA	3	1	0	2	0	1	0	4
Cellule vitreali	3	0	1*	1	0	0	1	3
Uveite intermedia	2	0	1*	0	0	0	1*	2
Precipitati cheratici	1	0	0	2	0	0	0	2
Scarsa dilatazione pupillare	1	0	0	0	0	1	0	1
Corpi mobili oculari	1	0	1	0	0	0	0	1
Detriti vitreali	1	0	0	0	0	0	1	1
Torbidità vitreale	1	0	0	1	0	0	0	1
* Evento moderato; tutti gli eventi sono stati di intensità lieve (14) o moderata (5). ‡ Un paziente ha avuto due eventi di cellule nella camera anteriore (un evento lieve e un evento moderato).								

Tutti i soggetti hanno ricevuto 60 mg di prednisone orale per 6 giorni a partire dal giorno -3, seguiti da un ciclo di riduzione progressiva di prednisone di 7 giorni. Un accertamento clinico di infiammazione cellulare oculare ha rivelato che non si è verificata alcuna infiammazione clinicamente significativa precocemente post-AAV2.7m8-aflibercept. In aggiunta, come mostrato nella **FIG. 6**, non è stato osservato alcun peggioramento o nuova infiammazione quando i soggetti ricevevano colliri a base di steroidi. Entro la settimana 24, l'infiammazione cellulare della camera anteriore era stata risolta o stava migliorando. L'infiammazione cellulare osservata è stata generalmente lieve. Le categorie di conta delle cellule dell'acqueo mostrate nella **FIG. 6** sono state basate sui criteri della Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) (Jabs, DA et al., J Ophthalmol. 2005; 140:509-516), laddove le categorie di conta delle cellule vitreali sono state basate sulle linee guida del National Institutes of Health (NIH).

Nel complesso, gli accertamenti di sicurezza hanno mostrato che AAV2.7m8-aflibercept è stato ben tollerato, senza DLT o SAE riportati. Tutti gli eventi di sicurezza sono stati da lievi a moderati, e la maggior parte erano correlati a infiammazione. Il follow-up continuo degli EA ha mostrato che l'acuità visiva media aritmetica è rimasta stabile e non sono state richieste iniezioni di salvataggio di anti-VEGF. Dunque, i risultati indicano che AAV2.7m8-aflibercept somministrato come singola iniezione IVT a una dose di 6×10^{11} vg/occhio in pazienti con wAMD che in precedenza richiedevano frequenti iniezioni di anti-VEGF ha un profilo di sicurezza accettabile.

C. Efficacia

In seguito a somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept, tutti e sei i soggetti hanno mostrato stabilizzazione dell'attività di malattia sulla base di accertamenti OCT. Come mostrato nelle **FIGG. 2A-2L**, le immagini OCT prese prima e dopo trattamento con AAV2.7m8-aflibercept hanno indicato che una robusta risposta anatomica era evidente in tutti e sei i soggetti nella Coorte 1. Per esempio, fluido sottoretinico persisteva con trattamento con anti-VEGF standard di cura, ma veniva risolto e rimaneva risolto in seguito a somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept nel Soggetto 1 (*ad es.* si confrontino le **FIGG. 2A e 2B**), Soggetto 2 (*ad es.* si confrontino le **FIGG. 2C e 2D**), Soggetto 3 (*ad es.* si confrontino le **FIGG. 2E e 2F**), Soggetto 4 (*ad es.* si confrontino le **FIGG. 2G e 2H**), e Soggetto 5 (*ad es.* si confrontino le **FIGG. 2I e 2J**). Il Soggetto 6 ha esibito una morfologia retinica coerente con vasculopatia coroideale polipoidale (PCV) (**FIG. 2K**) e, sebbene un qualche fluido persistesse dopo un trattamento con AAV2.7m8-aflibercept, non vi è stata evidenza di progressione della malattia (**FIG. 2L**). In aggiunta, come mostrato nella **FIG. 3**, nessuno dei soggetti ha esibito un aumento dello spessore del sottocampo centrale (CST) ed è stata osservata una diminuzione media aritmetica di -52,7 μm (IC del 90% -86,5, -18,8). Un aumento di CST è indicativo della progressione della malattia nella wAMD. È importante sottolineare che a nessuno dei soggetti sono state somministrate o richieste iniezioni di salvataggio di aflibercept standard di cura ("iniezioni di salvataggio").

La migliore acuità visiva corretta (BCVA) è stata misurata sulla base di accertamenti con lettere ETDRS in tutti i soggetti per tutto lo studio. Come mostrato nella **FIG. 4**, la BCVA era stabile tra i soggetti nella Coorte 1 con una diminuzione media aritmetica di -2 lettere (IC del 90% -9,1, 5,1).

A un tempo di follow-up mediano di 34 settimane dopo una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept, nessun soggetto ha esibito segni di riattivazione della malattia all'imaging OCT (**FIGG. 7A-7B**). In aggiunta, nessun soggetto ha richiesto alcuna iniezione di salvataggio di anti-VEGF IVT e nessun soggetto ha soddisfatto i criteri di ritrattamento in nessun punto durante il periodo di follow-up fino a 44 settimane. Infine, durante il periodo di follow-up aggiuntivo oltre le 24 settimane, la BCVA è stata mantenuta (cioè nessun paziente ha perso o guadagnato più di 10 lettere ETDRS), i miglioramenti anatomici (cioè risoluzione del liquido sottoretinico e intraretinico e riduzioni del CST) osservati alla settimana 24 sono stati mantenuti e non sono emerse problematiche di sicurezza.

Un sommario dei risultati di sicurezza ed efficacia valutati al tempo di follow-up mediano di 34 settimane è fornito nella **Tabella 7**. Un sommario dei risultati di efficacia valutati al tempo di follow-up mediano di 44 settimane è fornito nella **Tabella 8**. Un paziente ha esperito un distacco retinico con separazione di macula non correlato al trattamento di studio. Per quel paziente, le ultime osservazioni antecedentemente a un distacco sono state usate per calcolare valori medi aritmetici di CST e BCVA e i range mostrati nella **Tabella 8**.

Tabella 7: sommario dei risultati di sicurezza ed efficacia al tempo di follow up mediano di 34 settimane

	Valore
Follow-up mediano, settimane	34,0
Follow-up (min, max), settimane	28, 44

	Valore
Eventi avversi di grado 3, n	0
Eventi avversi seri, n	0
Tossicità limitanti la dose, n	0
Cambiamento di BCVA medio aritmetico dal basale, lettere ETDRS	-1,5
Cambiamento di BCVA dal basale (min, max), lettere ETDRS	-9, +5
Numero totale di iniezioni di salvataggio, n	0

Tabella 8: sommario dei risultati di efficacia al tempo di follow up mediano di 44 settimane

	Valore
Cambiamento di BCVA medio aritmetico dal basale, lettere ETDRS	-1,8
Cambiamento di BCVA dal basale (min, max), lettere ETDRS	-7, +7
Cambiamento di CST medio aritmetico dal basale, μm	-18,5
Cambiamento di CST dal basale (min, max), μm	-75, +32
Numero totale di iniezioni di salvataggio, n	0

Un sommario di un'analisi aggiuntiva dei risultati di efficacia al tempo di follow-up mediano di 44 settimane (range di 40-52 settimane) dopo una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept è fornito nella **Tabella 9**.

Tabella 9: sommario dei risultati di efficacia al tempo di follow-up di 40-52 settimane (mediana 44 settimane)

	Valore
Cambiamento di BCVA medio aritmetico dal basale, lettere ETDRS	-1,0
Cambiamento di BCVA dal basale (min, max), lettere ETDRS	-7, +7
Cambiamento di CST medio aritmetico dal basale, μm	-25,5
Cambiamento di CST dal basale (min, max), μm	-117, +32
Numero totale di iniezioni di salvataggio, n	0

Gli eventi infiammatori cellulari e i trattamenti con steroidi dati a ciascun soggetto sono stati analizzati fino al tempo di follow-up di 52 settimane. Come mostrato nella **FIG. 8**, i Soggetti 1 e 5 non hanno avuto reazioni cellulari oltre il giorno 3. Entrambi i soggetti hanno iniziato gli steroidi topici nei secondi 6 mesi dello studio per flare delle cellule dell'acqueo (AC, Aqueous Cell) e sinechie posteriori. Entrambi i soggetti hanno ricevuto steroidi topici e colliri midriatici, e il Soggetto 1 ha smesso di ricevere colliri a base di steroidi topici. I Soggetti 2 e 6 hanno esibito infiammazione a insorgenza precoce entro il primo mese dopo una somministrazione di AAV2.7m8-afibercept, con una risposta AC e un qualche spillover alle cellule vitreali. L'infiammazione in entrambi i soggetti è stata risolta in seguito a trattamento con steroidi topici. Entrambi i soggetti hanno continuato con i colliri due volte al giorno (BID). I Soggetti 3 e 4 hanno esperito un'insorgenza più ritardata dell'infiammazione cellulare, dopo che gli steroidi topici sono stati interrotti (entro i mesi 2-3 dopo una somministrazione di AAV2.7m8-afibercept). L'infiammazione in questi soggetti è stata responsiva a

steroidi topici. Il Soggetto 3 ha smesso di ricevere colliri a base di steroidi topici. Il Soggetto 4 ha esperito un distacco retinico non correlato e sta ricevendo colliri BID.

Nel complesso, l'infiammazione è stata di basso grado, con nessuna infiammazione precoce clinicamente significativa riportata. Tutta l'infiammazione era responsiva a steroidi topici, con tendenza alla risoluzione nel tempo. L'infiammazione è stata principalmente guidata da un processo delle cellule dell'acqueo.

Le **FIGG. 9A-9B** mostrano un imaging OCT dei Soggetti 1-6 per le settimane di follow-up dalla 40 alla 52. Nessun soggetto ha esibito segni di riattivazione della malattia all'imaging OCT, e la BCVA e i miglioramenti anatomici sono stati mantenuti. In aggiunta, nessun soggetto ha richiesto iniezioni IVT di anti-VEGF di salvataggio o soddisfaceva criteri di ritrattamento.

D. Conclusioni

L'attuale terapia standard di cura per wAMD sono iniezioni IVT di anti-VEGF che sono tipicamente richieste a lungo termine, circa ogni 4-8 settimane. La compliance a questo regime può essere difficile per i pazienti, gli accuditori, e i sistemi sanitari, portando a un dosaggio subottimale e alla perdita della vista dovuta a sottotrattamento.

I risultati presentati in questo esempio mostrano che AAV2.7m8-aflibercept ha fornito un chiaro beneficio per il miglioramento dell'anatomia retinica e la stabilizzazione della vista, esibendo al contempo un profilo di sicurezza accettabile. Specificamente, i pazienti hanno mantenuto la vista durante lo studio, e AAV2.7m8-aflibercept ha mostrato di essere sicuro e ben

tollerato, con infiammazione osservata generalmente lieve e responsiva a colliri a base di steroidi.

È stato notato che i soggetti nella Coorte 1 di questo studio richiedevano precedentemente frequenti iniezioni di anti-VEGF (**Tabella 4**) al fine di rallentare o prevenire la progressione della loro malattia; tuttavia, non sono state richieste iniezioni di salvataggio di anti-VEGF durante questo studio in seguito a somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept.

È stato notato che il fluido sottoretinico era presente alle scansioni OCT di soggetti sottoposti a trattamento standard di cura con anti-VEGF per più di 20 settimane, e continuava per 1-2 settimane dopo l'iniezione IVT di aflibercept di Screening. Questo fluido era presente persino se i soggetti erano stati trattati ripetutamente ed era dunque refrattario al bolo IVT standard di cura della proteina anti-VEGF. Inaspettatamente, questo SRF refrattario è stato risolto dopo trattamento con AAV2.7m8-aflibercept, un risultato che non sarebbe stato previsto dagli studi preclinici.

La sicurezza ed efficacia osservate di AAV2.7m8-aflibercept somministrato a una dose di 6×10^{11} vg/occhio hanno portato alla continuazione di questo studio di Fase 1 per accertare la sicurezza ed efficacia di AAV2.7m8-aflibercept somministrato a dosi più basse e con corticosteroidi topici, come descritto nell'Esempio 2.

Esempio 2: uno studio di Fase 1 in aperto su AAV2.7m8-aflibercept nella degenerazione maculare legata all'età neovascolare (umida) a dosi più basse di 6×10^{11} vg/occhio e con corticosteroidi topici

L'esempio seguente descrive una continuazione dello studio di Fase 1 descritto nell'Esempio 1 per accertare la sicurezza ed efficacia di AAV2.7m8-aflibercept somministrato a dosi più basse di 6×10^{11} vg/occhio e con corticosteroidi topici in soggetti con wAMD.

I. Obiettivi ed endpoint dello studio

L'obiettivo primario, gli obiettivi secondari e gli endpoint primario e secondario sono come descritto nella Sezione I dell'Esempio 1.

II. Soggetti dello studio

I soggetti dello studio in questo studio sono come descritto nella Sezione II dell'Esempio 1.

III. Prodotto medicinale di indagine

Il prodotto medicinale di indagine è AAV2.7m8-aflibercept, come descritto in dettaglio nella Sezione III dell'Esempio 1 e come raffigurato nella **FIG. 1A**, con l'eccezione che la concentrazione di AAV2.7m8-aflibercept è stata variata al fine di mantenere un volume di iniezione idoneo come descritto nella **Tabella 10**, nel seguito.

Tabella 10: formulazione del prodotto medicinale di indagine

AAV2.7m8-aflibercept per le coorti 2-4

	Concentrazione di AAV2.7m8-aflibercept	Volume di iniezione
Coorte 2	12.6×10 vg/ml	30 μ l

	Concentrazione di AAV2.7m8- aflibercept	Volume di iniezione
Coorte 3	12,6 × 10 ¹¹ vg/ml	30 µl
Coorte 4a	12,6 × 10 ¹¹ vg/ml	100 µl
Coorte 4b	11,6 × 10 ¹¹ vg/ml	100 µl

IV. Disegno dello studio

A. Dose e metodo di somministrazione

AAV2.7m8-aflibercept alle dosi descritte nel seguito è stato somministrato come descritto nella Sezione IV dell'Esempio 1.

Coorti di studio 2-4

Coorte 2: sei soggetti a cui è diagnosticata wAMD sono arruolati nella Coorte 2. Ai soggetti nella Coorte 2 è somministrata una singola iniezione IVT di AAV2.7m8-aflibercept a una Dose 2 di 2×10^{11} vg/occhio con un regime profilattico di prednisone orale.

Coorte 3: nove soggetti ai quali è diagnosticata wAMD sono arruolati nella Coorte 3. Ai soggetti nella Coorte 3 è somministrata una singola iniezione IVT di AAV2.7m8-aflibercept a una Dose 2 di 2×10^{11} vg/occhio con un regime profilattico di corticosteroidi topici.

Coorte 4: nove soggetti ai quali è diagnosticata wAMD sono arruolati nella Coorte 4. Se nella maggioranza dei soggetti nelle Coorti 2 e 3 vengono osservati segni di essudazione da neovascolarizzazione coroideale che

richiedono terapia di salvataggio, ai soggetti nella Coorte 4 è somministrata una singola iniezione IVT di AAV2.7m8-aflibercept a una Dose 3 di 6×10^{10} vg/occhio con un regime di corticosteroidi topici (Coorte 4b). Se non vengono osservati segni di essudazione da neovascolarizzazione coroideale che richiedano terapia di salvataggio nella maggioranza dei soggetti nelle Coorti 2 e 3, ai soggetti nella Coorte 4 è somministrata una singola iniezione IVT di AAV2.7m8-aflibercept a una Dose 1 di 6×10^{11} vg/occhio con un regime di corticosteroidi topici (Coorte 4a).

B. Visite di studio

Le visite di studio sono come descritto nella Sezione IV dell'Esempio 1 e nella **FIG. 1B**.

C. Regime di corticosteroidi

Ai soggetti nella Coorte 2 è somministrato un regime profilattico di corticosteroidi orali di 13 giorni come descritto in dettaglio per la Coorte nell'Esempio 1:

Coorte 2: ai soggetti nella Coorte 2 è somministrata una singola iniezione IVT di AAV2.7m8-aflibercept a una Dose 2 di 2×10^{11} vg/occhio con un regime profilattico di corticosteroidi orali di 13 giorni, partendo con 60 mg di prednisone 3 giorni prima e 3 giorni dopo un trattamento con AAV2.7m8-aflibercept per un totale di 6 giorni. Ciò è seguito da una riduzione progressiva di prednisone di 7 giorni. Un sommario del regime di prednisone orale per la Coorte 2 è fornito nella **Tabella 2** dell'Esempio 1.

Ai soggetti nelle Coorti 3 e 4 è somministrato un regime di riduzione progressiva profilattico di corticosteroide topico (gocce di difluprednato allo 0,05%) come descritto nel seguito:

Coorte 3: ai soggetti nella Coorte 3 è somministrata una singola iniezione IVT di AAV2.7m8-aflibercept a una Dose 2 di 2×10^{11} vg/occhio con un regime di corticosteroidi topici profilattico a riduzione progressiva di 4 settimane.

Coorte 4: ai soggetti nella Coorte 4b è somministrata una singola iniezione IVT di AAV2.7m8-aflibercept a una Dose 3 di 6×10^{10} vg/occhio con un regime di corticosteroidi topici profilattico a riduzione progressiva di 4 settimane che può essere esteso a discrezione del medico curante. Ai soggetti nella Coorte 4a è somministrata una singola iniezione IVT di AAV2.7m8-aflibercept a una Dose 3 di 6×10^{11} vg/occhio con un regime profilattico topico di difluprednato a riduzione progressiva di 4 settimane che può essere esteso a discrezione del medico curante.

Un sommario del regime di difluprednato topico è fornito nella **Tabella 11A**, nel seguito.

Tabella 11A: sommario del regime di difluprednato topico

Settimane di studio	Somministrazioni di difluprednato al giorno
Settimana 1	4 volte
Settimana 2	3 volte
Settimana 3	2 volte
Settimana 4	1 volta

Settimane di studio	Somministrazioni di difluprednato al giorno
Il regime di difluprednato può essere esteso a discrezione del medico curante.	

Ai soggetti nelle Coorti 3 e 4 può anche essere somministrato un regime profilattico di corticosteroidi di 6 settimane che può essere esteso a discrezione del medico curante. Un sommario del regime profilattico di corticosteroidi di 6 settimane è fornito nella **Tabella 11B**.

Tabella 11B. Sommario del regime di difluprednato topico di 6 settimane

Giorni di studio	Numero totale di giorni	Somministrazioni di difluprednato al giorno
Giorni da 1 a 21	21	4 volte
Giorni da 22 a 28	7	3 volte
Giorni da 29 a 35	7	2 volte
Giorni da 36 a 42	7	1 volta
Giorno 43 e oltre	0	Il regime di difluprednato può essere esteso a discrezione del medico curante.

L'avvio di immunosoppressione immediatamente dopo esposizione a iniezione IVT di AAV2.7m8-aflibercept è progettato per limitare la risposta immunitaria all'esposizione ad antigeni del capsido. I soggetti si auto-somministrano una goccia di soluzione di difluprednato allo 0,05% (2,5 µg di difluprednato) nel sacco congiuntivale dell'occhio trattato 4 volte al giorno per la

prima settimana cominciando il giorno dell'iniezione di AAV2.7m8-aflibercept (Giorno 1, post-iniezione). Seguono 3 volte al giorno per la seconda settimana, 2 volte al giorno per la terza settimana e 1 volta al giorno per la quarta settimana. Il regime di corticosteroidi a riduzione progressiva può essere esteso a discrezione del medico curante.

D. Medicinali e trattamenti proibiti

I medicinali e i trattamenti proibiti per questo studio sono come descritto nella Sezione IV dell'Esempio 1.

E. Sommario del disegno di studio per le Coorti 2-4

Un sommario del disegno di studio per le Coorti 2-4 è fornito nella Tabella 12.

Tabella 12: sommario del disegno di studio per le Coorti 2-4

Coorte	Dose di AAV2.7m8-aflibercept	Regime di corticosteroidi
Coorte 2	2×10^{11} vg/occhio	Regime profilattico di prednisone orale.
Coorte 3	2×10^{11} vg/occhio	Corticosteroide topico profilattico.
Coorte 4a	6×10^{11} vg/occhio	Corticosteroide topico profilattico.
Coorte 4b	6×10^{10} vg/occhio	Corticosteroide topico profilattico.

F. Durata dello studio

La durata della partecipazione dei soggetti a questo studio è come descritto nella Sezione IV dell'Esempio 1.

V. Accertamenti di studio

Gli accertamenti svolti in questo studio sono come descritto nella Sezione V dell'Esempio 1. In aggiunta, vengono presi campioni di umor acqueo e vitreo.

Campionamento dell'umor acqueo

Campioni di umor acqueo sono ottenuti allo screening (antecedentemente un'iniezione di aflibercept) e al Giorno 1 (antecedentemente un'iniezione di AAV2.7m8-aflibercept), alle Settimane 12, 24, 36, 52, 76, 88, 104, e a qualsiasi visita che richieda il primo trattamento di salvataggio con aflibercept (Eylea) o un'interruzione precoce. I campioni di umor acqueo sono analizzati per concentrazioni di aflibercept, VEGF-A e NAb.

Campionamento dell'umor vitreo

Campioni di umor vitreo sono ottenuti in qualsiasi punto durante lo studio quando è svolta una vitrectomia. Campioni di umor vitreo sono analizzati principalmente per le concentrazioni di aflibercept. I campioni rimanenti sono analizzati per concentrazioni di VEGF-A.

VI. Risultati

A. Caratteristiche del soggetto

Le caratteristiche della malattia e le storie di trattamento per tutti i soggetti sono registrate. In particolare, vengono registrati la data o l'anno della diagnosi di DMLE neovascolare, il numero di antecedenti iniezioni di anti-VEGF nell'occhio di studio, la media calcolata dell'intervallo di iniezione di anti-VEGF pre-studio, il numero di iniezioni di anti-VEGF ricevute nei 4 mesi antecedenti lo screening, la data della dose IVT di aflibercept allo Screening, e la data di iniezione di AAV2.7m8-aflibercept.

B. Sicurezza

I soggetti sono attentamente monitorati il giorno della somministrazione IVT di AAV2.7m8-aflibercept e successivamente post-trattamento.

La sicurezza di AAV2.7m8-aflibercept è accertata attraverso la raccolta dei parametri vitali, esami fisici e degli occhi, ECG, test per gravidanza e valutazioni di laboratorio.

L'incidenza, gravità e relazione con il trattamento di EA, SAE e DLT sono accertate in tutti i soggetti.

L'occorrenza, gravità e relazione con il trattamento dell'infiammazione intraoculare sono accertate in tutti i soggetti.

L'acuità visiva è accertata in tutti i soggetti attraverso BCVA espressa come punteggio ETDRS (numero di lettere lette correttamente) (Vitale et al., (2016) JAMA Ophthalmol 134(9):1041-1047).

Il requisito per iniezioni di salvataggio di anti-VEGF è monitorato in tutti i soggetti.

È determinata l'esistenza di una correlazione tra i livelli preesistenti di NAb anti-AAV nei sieri del soggetto e gli EA, SAE e DLT.

È accertato l'effetto di una profilassi con steroide (topica o orale) sull'occorrenza e sulla risoluzione di EA, SAE, DLT e infiammazione intraoculare.

Iniezioni IVT di aflibercept standard di cura sono usate come trattamento di salvataggio.

C. Accertamenti di efficacia

La stabilizzazione della malattia è accertata in tutti i soggetti. Spessore retinico, spessore del sottocampo centrale, fluido e altre peculiarità anatomiche sono misurati (*ad es.*, mediante imaging OCT) antecedentemente e dopo una somministrazione del trattamento di studio.

L'efficacia di AAV2.7m8-aflibercept nel trattamento della wAMD è accertata mediante le seguenti misure. Un punto temporale chiave di accertamento è a 24 settimane. I valori basali di BCVA e SD-OCT si riferiscono ai valori presi durante la visita di screening nei Giorni da -15 a -7 (*ad es.* Giorni da -14 a -7) antecedentemente all'iniezione di aflibercept. I valori basali sono usati per il confronto per l'analisi.

La vista è accertata principalmente attraverso la BCVA espressa come punteggio ETDRS (numero di lettere lette correttamente) (Vitale et al., (2016) JAMA Ophthalmol 134(9):1041-1047). Il mantenimento della vista è classificato se il soggetto perde meno di 15 lettere nel punteggio ETDRS in confronto al Basale. Gli endpoint calcolati includono il cambiamento medio aritmetico dal

Basale, la percentuale di guadagno di almeno 15 lettere in confronto al Basale, e la percentuale di perdita di 15 o più lettere in confronto al Basale.

Una FA è svolta per accertare lesioni da CNV usando una tecnica standard per valutare la fuoriuscita in confronto al Basale.

L'SD-OCT è svolta usando apparecchiature approvate e tecniche standard per valutare lo spessore retinico (ad es. spessore retinico centrale o spessore del sottocampo centrale), volume maculare e presenza di fluido (ad es. fluido sottoretinico e fluido intraretinico) e fluido in confronto ai valori al Basale.

È determinato il numero di iniezioni di aflibercept date post-trattamento con AAV2.7m8-aflibercept per soggetto, nel tempo, dalla Settimana 4 alla Settimana 104. In aggiunta, sono determinati il tempo alla prima iniezione di aflibercept post-trattamento con AAV2.7m8-aflibercept e la proporzione di soggetti che non hanno richiesto un ritrattamento con aflibercept.

La proporzione di soggetti senza IRF nel tempo dalla settimana 4 alla settimana 104 è determinata.

La proporzione di soggetti senza SRF nel tempo dalla settimana 4 alla settimana 104 è determinata.

La proporzione di soggetti senza un PED nel tempo dalla settimana 4 alla settimana 104 fra soggetti con un PED al basale è determinata.

Esempio 3: risultati di uno studio di Fase 1 in aperto su AAV2.7m8-aflibercept nella degenerazione maculare legata all'età neovascolare

(umida) a dosi più basse di 6×10^{11} vg/occhio e con corticosteroidi topici

Questo Esempio descrive i risultati dello studio di Fase 1 descritto nell'Esempio 2 che ha accertato la sicurezza ed efficacia di AAV2.7m8-afibercept somministrato a dosi più basse di 6×10^{11} vg/occhio e con corticosteroidi topici in soggetti con wAMD.

Risultati

Coorte 2

Le caratteristiche al basale di soggetti nella Coorte 2 sono fornite nella **Tabella 13**.

Tabella 13. Caratteristiche al basale di soggetti nella Coorte 2

Caratteristica	Valore
Età media aritmetica, anni	79,8
Tempo medio aritmetico dalla diagnosi di nAMD, anni	4,0
Numero medio aritmetico di iniezioni di anti-VEGF dalla diagnosi iniziale (range)	34,0 (4-69)
Numero medio aritmetico di iniezioni di anti-VEGF nei 12 mesi antecedenti lo screening	9,2
BCVA basale nell'occhio di studio (lettere ETDRS), media aritmetica	64,7
Equivalente di Snellen approssimativo	20/50
CST medio aritmetico al basale dell'occhio di studio, μm	307,7

Come descritto nell'Esempio 2, ai soggetti nella Coorte 2 è stata somministrata una singola iniezione IVT di AAV2.7m8-aflibercept a una Dose 2 di 2×10^{11} vg/occhio con un regime profilattico di corticosteroidi orali di 13 giorni, iniziando con 60 mg di prednisone 3 giorni prima e 3 giorni dopo un trattamento con AAV2.7m8-aflibercept per un totale di 6 giorni. Questo è stato seguito da una riduzione progressiva di prednisone di 7 giorni. Un sommario del regime di prednisone orale per la Coorte 2 è fornito nella **Tabella 2** dell'Esempio 1.

Come mostrato nella **FIG. 10**, 24 settimane dopo una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept, la BCVA era stabile tra tutti i soggetti nella Coorte 2, con una diminuzione media aritmetica di -4,8 lettere ETDRS. In aggiunta, come mostrato nella **FIG. 11**, i soggetti esibivano uno spessore retinico centrale migliorato all'OCT, con una diminuzione media del CST di 27,8 μm . Quattro soggetti su sei (il 66%) non avevano ricevuto un'iniezione di salvataggio di anti-VEGF al tempo di follow-up delle 24 settimane.

Gli eventi infiammatori cellulari e i trattamenti con steroidi dati per ciascun soggetto sono stati analizzati fino a un tempo di follow-up di 24 settimane. Come mostrato nella **FIG. 12**, l'infiammazione era responsiva a steroidi topici. I Soggetti 4 e 5 non avevano alcuna infiammazione cellulare clinicamente pertinente (il Soggetto 5 aveva <5 cellule AC alla settimana 20) e non richiedevano trattamenti con steroidi. I Soggetti 2 e 3 hanno mostrato 1/2+ gradi di cellule dell'acqueo e vitreali, o tra 1 e 5 cellule osservate nell'acqueo e tra 1 e 10 cellule osservate nel vitreo, che sono state risolte in seguito a un breve ciclo di steroidi topici. Il Soggetto 1 ha avuto una risposta infiammatoria precoce in seguito alla cessazione degli steroidi orali, che ha risposto

velocemente con colliri a base di steroidi; il soggetto è rimasto in trattamento con colliri a base di steroidi quattro volte al giorno (QID). Il Soggetto 6 ha avuto una risposta cellulare AC che è peggiorata con le gocce BID e si è risolta con le gocce QID. Le categorie di grado delle cellule dell'acqueo erano basate sui criteri della Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) (Jabs, DA et al. J Ophthalmol. 2005;140:509-516). Le categorie di grado delle cellule vitreali erano basate sulle linee guida del National Institutes of Health (NIH).

Nel complesso, l'infiammazione è stata generalmente lieve. Gli steroidi orali non hanno fornito una copertura sufficientemente lunga in certi soggetti. Tuttavia, tutti gli eventi infiammatori erano responsivi a steroidi topici.

L'imaging OCT a 24 settimane dopo una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept ha mostrato miglioramenti anatomici e mantenimento dell'acuità visiva (BCVA). Come mostrato nelle **FIGG. 13A-13B**, i Soggetti 1, 2, 4 e 6 hanno esibito risoluzione del fluido. Il Soggetto 3 ha ricevuto 3 iniezioni di aflibercept di salvataggio, tutte per una perdita di 10 lettere BCVA attribuibile a fluido retinico. Il Soggetto 5 ha ricevuto 3 iniezioni di aflibercept di salvataggio, tutte per un aumento di CST di 75 μ m.

Fino alla settimana 24 dopo una somministrazione di AA V2.7m8-aflibercept, quattro soggetti su sei non avevano ricevuto alcuna iniezione di salvataggio di anti-VEGF. Come mostrato nel grafico a corsie di nuoto nella **FIG. 14**, i Soggetti 3 e 5 hanno ricevuto tre iniezioni IVT di anti-VEGF ciascuno durante il periodo di follow-up di 24 settimane.

Nel complesso, i risultati per la Coorte 2 a 24 settimane dopo una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept mostrano che AAV2.7m8-aflibercept

ha una robusta efficacia. In particolare, la BCVA media aritmetica è stata mantenuta e l'anatomia retinica e CST sono stati migliorati in soggetti che non hanno richiesto iniezioni di anti-VEGF di salvataggio. In aggiunta, AAV2.7m8-aflibercept è stato sicuro e ben tollerato, con infiammazione di basso grado che era responsiva a colliri a base di steroidi.

Esempio 4: panoramica dei risultati di uno studio di Fase 1 in aperto di AAV2.7m8-aflibercept nella degenerazione maculare neovascolare legata all'età (umida)

Questo Esempio fornisce una panoramica dei risultati dello studio di Fase 1 in aperto di AAV2.7m8-aflibercept per il trattamento della degenerazione maculare legata all'età (DMLE) con neovascolarizzazione coroideale descritto negli Esempi 1-3.

Sicurezza

I risultati disponibili per la Coorte 1 fino al tempo di follow-up mediano di 44 settimane e per la Coorte 2 fino al tempo di follow-up di 24 settimane mostrano che AAV2.7m8-aflibercept è stato ben tollerato. Specificamente, non sono stati riportati eventi avversi seri correlati ad AAV2.7m8-aflibercept o alla procedura. In aggiunta, non sono stati riportati eventi avversi sistemici correlati ad AAV2.7m8-aflibercept o eventi avversi che soddisfano i criteri per tossicità limitanti la dose. Gli eventi avversi correlati ad AAV2.7m8-aflibercept sono stati lievi (71%) o moderati (29%). Un'infiammazione di basso grado è stata comunemente riportata ed era responsiva a colliri a base di steroidi. Non è stata riportata alcuna vasculite, retinite o coroidite. È stato riportato un evento avverso serio di distacco retinico pseudofachico spontaneo non correlato ad

AAV2.7m8-aflibercept. Il distacco retinico è stato riparato chirurgicamente e il soggetto rimane sotto follow-up.

Efficacia

I risultati disponibili per la Coorte 1 fino al tempo di follow-up mediano di 44 settimane e per la Coorte 2 fino al tempo di follow-up di 24 settimane mostrano che AAV2.7m8-aflibercept ha mostrato una robusta efficacia. Nella Coorte 1, a nessun soggetto è stata somministrata un'iniezione di salvataggio di anti-VEGF. Nella Coorte 2, a quattro soggetti su sei non sono state somministrate iniezioni di salvataggio di anti-VEGF. Nel complesso, nei 10 soggetti su 12 (83%) nelle Coorti 1 e 2 a cui non sono state somministrate iniezioni di salvataggio di anti-VEGF, la BCVA media aritmetica è stata mantenuta e il CST medio aritmetico è stato migliorato.

Un sommario dei risultati di sicurezza ed efficacia disponibili per le Coorti 1 e 2 è fornito nella **Tabella 14**.

Tabella 14. Sommario di risultati di sicurezza ed efficacia per soggetti nelle Coorti 1 e 2

Risultati a seguito di una singola dose di AAV2.7m8-aflibercept:	Coorte 1	Coorte 2
Soggetti	6	6
Dose di AAV2.7m8-aflibercept	Dose più alta 6 x 10 ¹¹ vg/occhio	Dose più bassa 2 x 10 ¹¹ vg/occhio
Iniezioni di salvataggio:		

Follow-up	50 settimane (mediana)	24 settimane (mediana)	
Numero di soggetti che richiedono iniezioni di salvataggio di anti-VEGF	0/6 soggetti	2/6 soggetti	
Iniezioni di salvataggio di anti-VEGF totali	0 iniezioni	6 iniezioni	
Sicurezza:			
Follow-up	50 settimane (mediana)	24 settimane (mediana)	
Eventi avversi sistemici	0	0	
Tossicità limitanti la dose (DLT)	0	0	
Eventi avversi seri (SAE) ¹	1	0	
SAE correlati a farmaco/procedura	0	0	
Cambiamento della BCVA²:			
		Coorte piena	Soggetti privi di salvataggio
Follow-up	44 settimane (mediana)	24 settimane	24 settimane
Media aritmetica (lettere ETDRS) ³	-1,0	-4,8	-0,8
Range (lettere ETDRS)	-7/+7	-19/+16	-14/+16
Cambiamento di CRT³:			

Follow-up	44 settimane (mediana)	24 settimane	24 settimane
Media aritmetica (μm) ⁴	-25,5	-27,8	-30,8
Range (μm) ⁴	-117/+32	-61/-8	-61/-8
<p>¹ Questo evento è stato giudicato non correlato ad AAV2.7m8-aflibercept o a qualsiasi procedura di studio.</p> <p>² Migliore acuità visiva corretta (BCVA) misurata mediante Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) (cioè tavole ottotipiche).</p> <p>³ Spessore retinico centrale (CRT), a cui ci si riferisce anche come spessore del sottocampo centrale (CST) accertato usando imaging con tomografia a coerenza ottica (OCT).</p> <p>⁴ I valori di BCVA e CST per il soggetto con distacco retinico (non correlato al trattamento di studio) hanno usato le più recenti osservazioni antecedenti al distacco.</p>			

Esempio 5: risultati aggiuntivi di uno studio di Fase 1 in aperto su AAV2.7m8-aflibercept nella degenerazione maculare legata all'età neovascolare (umida)

Questo Esempio descrive i risultati per le Coorti 1, 2 e 3 dello studio di Fase 1 descritto negli Esempi 1-4 che ha accertato la sicurezza ed efficacia di una singola iniezione intravitreale di AAV2.7m8-aflibercept in soggetti con wAMD. I risultati di sicurezza ed efficacia sono forniti per la Coorte 1 a un tempo di follow-up mediano di 60 settimane (range di 52-64 settimane), per la Coorte 2 a un tempo di follow-up mediano di 36 settimane (range di 32-40 settimane) e per la Coorte 3 a un tempo di follow-up fino a 20 settimane.

Risultati

Ai soggetti nella Coorte 1 è stata somministrata una singola iniezione IVT di AAV2.7m8-aflibercept a una dose di 6×10^{11} vg/occhio. Ai soggetti nella Coorte 2 è stata somministrata una singola iniezione IVT di AAV2.7m8-aflibercept a una dose di 2×10^{11} vg/occhio. Ai soggetti nelle Coorti 1 e 2 è stato somministrato anche un regime di prednisone orale profilattico (*si veda la **Tabella 2***).

Ai soggetti nella Coorte 3 è stata somministrata una singola iniezione IVT di AAV2.7m8-aflibercept a una dose di 2×10^{11} vg/occhio con un regime profilattico di corticosteroidi topici di 6 settimane (*si veda la **Tabella 11B***). Il regime di corticosteroidi topici consisteva in colliri a base di corticosteroidi (lo 0,05% di difluprednato [2,5 µg]) somministrati quattro volte al giorno per 3 settimane (QID per 3 settimane), a partire dallo stesso giorno della somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept (somministrato dopo l'iniezione IVT di AAV2.7m8-aflibercept), seguita da una riduzione progressiva di 3 settimane che consisteva in colliri a base di corticosteroidi somministrati tre volte al giorno per una settimana (TID per 1 settimana), seguita da colliri a base di corticosteroidi somministrati due volte al giorno per una settimana (BID per 1 settimana), seguita da colliri a base di corticosteroidi somministrati una volta al giorno per una settimana (QD per 1 settimana).

Caratteristiche del soggetto

Le caratteristiche al basale dei soggetti nelle Coorti 1, 2 e 3 sono fornite nella **Tabella 15**.

Tabella 15. Caratteristiche al basale dei soggetti nelle Coorti 1-3

Caratteristiche al basale	Coorte 1 (N=6)	Coorte 2 (N=6)	Coorte 3 (N=9)
Età media aritmetica, anni	79,0	79,8	77,4
Anni medi aritmetici dalla diagnosi di nAMD	3,5	4,1	3,3
Numero medio aritmetico (range) di iniezioni di anti-VEGF dalla diagnosi iniziale	35,3 (7-109)	34,0 (4-69)	24,8 (9-70)
Numero medio aritmetico di iniezioni di anti-VEGF nei 12 mesi antecedenti AAV2.7m8-aflibercept	9,2	9,2	9,1
BCVA media aritmetica dell'occhio di studio, lettere ETDRS Equivalente di Snellen approssimativo	65,8 20/50	64,7 20/50	65,9 20/50
CST medio aritmetico dell'occhio di studio, μm	369,2	307,7	472,3

Come mostrato nella **Tabella 15**, i soggetti nelle Coorti 1-3 in precedenza richiedevano frequenti iniezioni di anti-VEGF per mantenere la vista. Le caratteristiche basali per i soggetti nelle Coorti 1-3 erano ben bilanciate, con età simili, media aritmetica simile antecedentemente alle iniezioni di anti-VEGF, e una necessità simile di iniezioni frequenti (ad es., oltre 9 iniezioni nell'anno antecedente una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept) per mantenere una vista basale relativamente alta di circa 65 lettere

ETDRS in tutte le coorti. I soggetti nella Coorte 3 erano, in media, più giovani e avevano meno iniezioni di anti-VEGF antecedenti dalla diagnosi iniziale e un CST basale medio più spesso.

Risultati di sicurezza

Come mostrato nella **Tabella 16**, nelle Coorti 1-3, non si sono verificati eventi avversi seri (SAE, Serious Adverse Event) correlati ad AAV2.7m8-aflibercept o alla procedura. In aggiunta, non sono stati osservati eventi avversi (EA) sistemici correlati ad AAV2.7m8-aflibercept. Si è verificato un SAE di distacco retinico che non era correlato al trattamento di studio ed è stato riparato e risolto chirurgicamente (una previa estrazione di cataratta e impianto di cristallino artificiale sono stati fattori di rischio chiave). Due soggetti hanno avuto eventi avversi di elevazione della pressione intraoculare (IOP) che si sono risolti. Un soggetto ha avuto due eventi di innalzamento lieve della IOP (la IOP più alta in assoluto è stata di 24 mmHg) che sono stati entrambi trattati con colliri Combigan®. Il secondo soggetto stava prendendo Combigan® per l'ipertensione oculare, e l'EA per IOP si è risolto spontaneamente entro un mese senza alcun cambiamento nel trattamento.

I soggetti nella Coorte 3 (a cui è stata somministrata profilassi con collirio a base di steroidi) hanno avuto un basso numero di eventi avversi oculari.

Tabella 16. Eventi avversi nelle Coorti 1, 2 e 3

Categoria	Coorte 1 (n=6)		Coorte 2 (n=6)		Coorte 3 (n=9)	
	Soggetti	Eventi	Soggetti	Eventi	Soggetti	Eventi

EA oculare (totale)	6	49	5	32	7	16
EA serio	1	1*	0	0	0	0
Correlato ad AAV2.7m8-aflibercept**	6	29	5	21	4	8
EA non oculare (totale)†	5	17	5	5	4	6
EA serio‡	1	1	0	0	2	2
* Distacco retinico (non correlato ad AAV2.7m8-aflibercept); ** gli eventi oculari correlati ad AA V2.7m8-aflibercept sono stati lievi (69%) o moderati (31%); †nessuno degli EA non oculari era correlato ad AAV2.7m8-aflibercept; ‡gli EA non oculari seri includevano la malattia degenerativa del disco intervertebrale (1) nella Coorte 1, ed esacerbazione della BPCO (1) e angina pectoris stabile (1) nella Coorte 3.						

Come mostrato nelle **FIGG. 15A-15C**, un'inflammatione lieve e di basso grado, che colpisce principalmente il segmento anteriore, era comune nelle Coorti 1-3 ed era responsiva a steroidi topici. Non è stata osservata evidenza clinica o con fluoresceina (angiografia con fluoresceina del polo posteriore) di vasculite, retinite o coroidite.

Tre soggetti nella Coorte 1 continuano a essere gestiti con steroidi topici, ma solo 1 soggetto ha qualsiasi evidenza di cellule infiammatorie. Il soggetto 2 è a steroidi topici una volta al giorno; il soggetto 4 è a steroidi topici due volte al giorno; e il soggetto 6 è a steroidi topici una volta al giorno. Nel complesso, nessuno dei soggetti nella Coorte 1 ha mai avuto una conta delle cellule infiammatorie al di sopra di 2+. In aggiunta, i soggetti nella Coorte 1

hanno avuto conte delle cellule infiammatorie di 2+ solo per un punto temporale.

Due soggetti nella Coorte 2 continuano a essere gestiti con steroidi topici e hanno evidenza di cellule infiammatorie lievi. Il Soggetto 1 è a steroidi topici una volta al giorno e il Soggetto 6 è steroidi topici una volta al giorno. I Soggetti 1 e 6 hanno avuto una certa riacutizzazione dell'infiammazione fino a 3+ conte delle cellule infiammatorie, ma entrambi i soggetti hanno esibito una rapida risoluzione con trattamento con steroidi topici.

Ai soggetti nella Coorte 3 è stato somministrato un regime profilattico con collirio a base di steroidi di 6 settimane. Questo regime ha ridotto al minimo l'infiammazione oculare precoce (**FIG. 15C**). Anche certi soggetti nella Coorte 3 continuano a essere gestiti con steroidi topici. Il Soggetto 3 nella Coorte 3 sta ricevendo steroidi topici quattro volte al giorno. Il Soggetto 5 non riceve più steroidi topici, ma gli sono stati somministrati steroidi topici come segue: quattro volte al giorno per 3 settimane in seguito a somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept, quindi due volte al giorno per una settimana, quindi quattro volte al giorno per una settimana a partire dalla Settimana 5, e quindi è stato diminuito da tre volte al giorno per una settimana a due volte al giorno per una settimana, fino a una volta al giorno per una settimana. I Soggetti 7-9 della Coorte 3 continuano il regime profilattico di collirio a base di steroidei di 6 settimane. In aggiunta al regime profilattico con steroidi descritto, il Soggetto 6 è stato ospedalizzato per broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) a seguito di trattamento con AAV2.7m8-aflibercept e gli sono stati prescritti steroidi orali. È stato riscontrato che la BPCO non era correlata ad AAV2.7m8-aflibercept.

Efficacia

La **FIG. 16A** mostra la BCVA media aritmetica (lettere ETDRS) dal basale fino alla Settimana 52 per soggetti nella Coorte 1. A un tempo di follow-up mediano di 60 settimane (range di 52-64 settimane), i soggetti nella Coorte 1 avevano un cambiamento di BCVA medio aritmetico dal basale di -2,7 lettere e il 100% dei soggetti (6/6) non aveva ricevuto un'iniezione di anti-VEGF di salvataggio. L'evidente diminuzione della BCVA media aritmetica alle Settimane 44 e 48 era dovuta a un soggetto che ha esperito un SAE di distacco retinico. La **FIG. 16B** mostra il CST medio aritmetico (μm) dal basale fino alla Settimana 52 per soggetti nella Coorte 1. A un tempo di follow-up mediano di 60 settimane (range di 52-64 settimane), i soggetti nella Coorte 1 avevano un cambiamento di CST medio aritmetico dal basale di -26,2 μm .

La **FIG. 17A** mostra la BCVA media aritmetica (lettere ETDRS) dal basale fino alla Settimana 36 per soggetti nella Coorte 2. A un tempo di follow-up mediano di 36 settimane (range di 32-40 settimane), i soggetti nella Coorte 2 avevano un cambiamento di BCVA medio aritmetico dal basale di -2,8 lettere e il 67% dei soggetti (4/6) non aveva ricevuto un'iniezione di anti-VEGF di salvataggio. I soggetti che non avevano ricevuto un'iniezione di anti-VEGF di salvataggio avevano un cambiamento di BCVA medio aritmetico dal basale di +2,3 lettere. La **FIG. 17B** mostra il CST medio aritmetico (μm) dal basale fino alla Settimana 36 per soggetti nella Coorte 2. A un tempo di follow-up mediano di 36 settimane (range di 32-40 settimane), i soggetti nella Coorte 2 avevano un cambiamento di CST medio aritmetico dal basale di -40,8 μm . In aggiunta, i soggetti che non avevano ricevuto un'iniezione di anti-VEGF di salvataggio hanno avuto un cambiamento di CST medio aritmetico dal basale di -30,0 μm . Nel complesso, nella Coorte 2, i miglioramenti di CST sono stati mantenuti fino alla Settimana 36.

La **FIG. 18A** mostra la BCVA media aritmetica (lettere ETDRS) dal basale fino alla Settimana 20 per cinque soggetti nella Coorte 3. A un tempo di follow-up di 20 settimane, i cinque soggetti dalla Coorte 3 hanno avuto un cambiamento di BCVA medio aritmetico dal basale di +6,8 lettere e l'80% (4/5) dei cinque soggetti dalla Coorte 3 non aveva ricevuto un'iniezione di anti-VEGF di salvataggio. I soggetti che non avevano ricevuto un'iniezione di anti-VEGF di salvataggio hanno avuto un cambiamento di BCVA medio aritmetico dal basale di +8,8 lettere. Nel complesso, nei cinque soggetti della Coorte 3, la BCVA è migliorata fino alla settimana 20 (*cioè*, un miglioramento medio aritmetico di 6,8 lettere per i cinque soggetti nella Coorte 3). La **FIG. 18B** mostra il CST medio aritmetico dal basale fino alla Settimana 20 per cinque soggetti nella Coorte 3. A un tempo di follow-up di 20 settimane, i cinque soggetti dalla Coorte 3 hanno avuto un cambiamento di CST medio aritmetico dal basale di -137,8 μm . In aggiunta, i soggetti che non avevano ricevuto un'iniezione di anti-VEGF di salvataggio hanno avuto un cambiamento di CST medio aritmetico dal basale di -149,8 μm . Nel complesso, nei cinque soggetti nella Coorte 3, il CST medio aritmetico è stato migliorato fino alla Settimana 20, con una diminuzione sostanziale del CST (*cioè*, una diminuzione media aritmetica di 137,8 μm per i cinque soggetti nella Coorte 3).

Come mostrato nel grafico a corsie di nuoto nella **FIG. 19**, nessun soggetto nella Coorte 1 ha ricevuto un'iniezione di anti-VEGF di salvataggio a un tempo di follow-up mediano di 60 settimane (range di 52-64 settimane). I Soggetti 3 e 5 nella Coorte 2 hanno ricevuto ciascuno 4 iniezioni di salvataggio di anti-VEGF (aflibercept). Il Soggetto 3 nella Coorte 3 ha ricevuto 2 iniezioni di salvataggio di anti-VEGF (aflibercept).

Studi di caso di soggetto

Al basale, il Soggetto 4 nella Coorte 1 (maschio di età di 62 anni) aveva ricevuto 109 precedenti iniezioni di anti-VEGF (9 negli ultimi 12 mesi antecedentemente a una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept) e aveva fluido sottoretinico persistente persino con frequenti iniezioni di anti-VEGF (**FIG. 20A**). Come mostrato nella **FIG. 20B**, una qualche riduzione del fluido sottoretinico dopo l'iniezione IVT di aflibercept di screening è stata osservata nel Soggetto 4. Dopo una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept, il fluido sottoretinico ha continuato a risolversi, e la retina era asciutta entro la Settimana 12. Questo effetto è continuato con nessun segno di recidiva di fluido fino a quando il soggetto ha esperito un distacco retinico non correlato che coinvolgeva la macula, che è stato diagnosticato alla Settimana 44. A causa del coinvolgimento maculare, la vista era ridotta e il soggetto è stato sottoposto a un intervento chirurgico di riparazione del distacco retinico di successo con vitrectomia e bolla di gas. Tuttavia, a causa della bolla di gas, l'imaging OCT non è stato possibile alla Settimana 48 e il soggetto non è stato in grado di leggere alcuna lettera sulla tavola ottotipica. Quando la bolla di gas si è dissolta, la vista è migliorata e non vi sono stati segni di attività della malattia DMLE umida o recidiva di fluido. La topografia del fundus è cambiata leggermente a causa del distacco retinico e il centro foveale è stato localizzato manualmente affinché corrispondesse alle scansioni di riferimento pre-operatorie nelle mappe di spessore retinico presentate nella **FIG. 20B** alle settimane 44, 52 e 60. Alla Settimana 60, la retina è rimasta asciutta, la vista era entro 10 lettere dal basale (BCVA), e il soggetto è rimasto privo di iniezioni di salvataggio.

Al basale, il Soggetto 5 nella Coorte 3 (maschio di età di 82 anni) aveva ricevuto 19 precedenti iniezioni di anti-VEGF (9 negli ultimi 12 mesi antecedentemente a una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept) e aveva fluido sottoretinico persistente persino con frequenti iniezioni di anti-VEGF (**FIG. 21A**). Come mostrato nella **FIG. 21B**, il Soggetto 5 ha esibito responsività all'iniezione di anti-VEGF di screening, tuttavia il fluido sottoretinico è ritornato entro 2 settimane. Dunque, il Soggetto 5 è un esempio di soggetto che era responsivo a trattamento con anti-VEGF ma richiedeva frequenti iniezioni per mantenere il fluido assente. Sulla base della storia del Soggetto 5, il soggetto avrebbe richiesto iniezioni di anti-VEGF in bolo su base mensile (ad es. circa una volta ogni 4 settimane). Tuttavia, una settimana dopo una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept, il fluido sottoretinico non era aumentato e nessun fluido è stato osservato alle Settimane 12, 16 e 20 dopo una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept. Questi risultati dimostrano che il decorso della malattia nel Soggetto 5 è stato alterato da una singola somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept.

Disamina

I risultati descritti in questo Esempio hanno mostrato che AAV2.7m8-aflibercept è stato ben tollerato e ha mostrato una robusta efficacia nelle Coorti 1, 2 e 3. In particolare, questi risultati hanno mostrato che una singola dose di AAV2.7m8-aflibercept ha ridotto il carico di iniezione di anti-VEGF in soggetti nelle Coorti 1, 2, e 3.

I risultati per soggetti nella Coorte 1, ai quali è stato somministrato AAV2.7m8-aflibercept a una dose di 6×10^{11} vg/occhio, hanno mostrato che zero soggetti hanno richiesto iniezioni di salvataggio di anti-VEGF a 1 anno e oltre

dopo una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept, dimostrando dunque la durata a lungo termine dell'efficacia di AAV2.7m8-aflibercept. In aggiunta, anche la maggior parte dei soggetti nelle Coorti 2 e 3, ai quali è stato somministrato AAV2.7m8-aflibercept a una dose di 2×10^{11} vg/occhio (dose 3 volte più bassa che nella Coorte 1), è rimasta priva di iniezioni di salvataggio di anti-VEGF.

Complessivamente, su 17 soggetti a cui è stato somministrato AAV2.7m8-aflibercept nelle Coorti 1-3 (inclusi 5 soggetti dalla Coorte 3 che sono stati seguiti per 20 settimane), 14 (82%) sono rimasti privi di iniezioni di salvataggio di anti-VEGF, hanno mantenuto la BCVA media aritmetica, e hanno mostrato miglioramenti nel CST medio aritmetico.

I risultati dalle Coorti 1-3 hanno anche mostrato che tutti gli eventi avversi correlati ad AAV2.7m8-aflibercept sono stati da lievi a moderati, e che l'infiammazione oculare osservata a seguito di somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept è stata di basso grado e responsiva a colliri a base di steroidi. In aggiunta, i soggetti nella Coorte 3, ai quali è stato somministrato un regime di collirio a base di steroidi profilattico di 6 settimane, hanno esibito minima infiammazione, dimostrando dunque che il regime a collirio a base di steroidi profilattico di 6 settimane è stato efficace nel ridurre al minimo un'infiammazione oculare precoce. Nessun evento di vasculite, retinite o coroidite è stato osservato.

Esempio 6: uno studio di Fase 2 multicentrico randomizzato in doppio cieco controllato attivo di AAV2.7m8-aflibercept in soggetti con edema maculare diabetico

Questo Esempio descrive uno studio di Fase 2 multicentrico randomizzato in doppio cieco controllato attivo che ha valutato la durabilità di una singola iniezione intravitreale (IVT) di AAV2.7m8-aflibercept in soggetti con edema maculare diabetico.

I. Obiettivi e endpoint dello studio

A. Obiettivo primario

L'obiettivo primario di questo studio è accertare la durabilità di una singola iniezione IVT di AAV2.7m8-aflibercept.

B. Obiettivi secondari

Gli obiettivi secondari di questo studio includono:

- accertamento della sicurezza e tollerabilità di AAV2.7m8-aflibercept.
- Valutazione dell'effetto di AAV2.7m8-aflibercept sull'edema maculare.
- Valutazione dell'effetto di AAV2.7m8-aflibercept sulla migliore acuità visiva corretta (BCVA).
- Valutazione dell'effetto di AAV2.7m8-aflibercept sul punteggio della Scala di gravità della retinopatia diabetica (DRSS).
- Accertamento della necessità di aflibercept di salvataggio (2 mg IVT).

- Accertamento dell'effetto di una dose precedente di aflibercept (2 mg IVT) antecedentemente a una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept.
- Valutazione dell'effetto di AAV2.7m8-aflibercept sullo sviluppo di complicanze che minacciano la vista (neovascolarizzazione del segmento anteriore, emorragia vitreale o distacco retinico trazionale).

C. Endpoint primari

L'endpoint primario di questo studio è il tempo al peggioramento dell'attività di malattia edema maculare diabetico (EMD) nell'occhio di studio, come definito dal verificarsi dell'uno o l'altro tra:

- un aumento dello spessore del sottocampo centrale (CST) > 50 µm come accertato mediante SD-OCT in confronto alla più bassa tra le due misurazioni di CST registrate al Giorno 1 o alla Settimana 4.
- Una perdita di > 5 lettere nella BCVA dovuta al peggioramento dell'attività della malattia EMD in confronto alla più alta tra le due misurazioni di BCVA registrate al Giorno 1 o alla Settimana 4.

D. Endpoint secondari

Gli endpoint secondari per questo studio sono basati su misure di esito per l'occhio di studio (salvo altrimenti specificato) e includono:

- incidenza e gravità di eventi avversi (EA) oculari e non oculari.

- Cambiamento dal Basale di CST e volume maculare nel tempo fino alla Settimana 48.
- Cambiamento dal Basale di BCVA nel tempo fino alla Settimana 48.
- Frequenza di aflibercept di salvataggio (2 mg IVT) nell'occhio di studio nel tempo durante lo studio.
- Incidenza di miglioramento di 2 step e 3 step nel punteggio DRSS nel tempo fino alla Settimana 48.
- Incidenza di peggioramento di 2 step e 3 step nel punteggio DRSS nel tempo fino alla Settimana 48.
- Insorgenza di complicanza che minaccia la vista (neovascolarizzazione del segmento anteriore, emorragia vitreale o qualsiasi altra retinopatia diabetica (DR) proliferativa ad alto rischio, o distacco retinico trazionale) nel tempo fino alla Settimana 48.
- Incidenza di CST <300 μ m nel tempo fino alla Settimana 48.
- Incidenza di riscontri clinicamente significativi tramite esami fisici, esami oculari, imaging e valutazione di laboratorio nel tempo fino alla Settimana 48.

II. Popolazione oggetto di studio

A. Criteri di inclusione

Soggetti con EMD di nuova diagnosi (*cioè*, diagnosi di EMD entro 6 mesi dallo screening) che hanno ricevuto fino a 2 iniezioni antecedenti di terapia con anti-VEGF nell'occhio di studio sono inclusi in questo studio se soddisfano i seguenti criteri di inclusione:

- età \geq 18 anni di età.
- Diabete mellito di tipo 1 o 2.
- Compromissione della vista dovuta a edema maculare diabetico coinvolgente il centro.
- Vista allo Screening:
 - occhio di studio: Da 78 a 50 lettere ETDRS di BCVA, incluse (equivalente di Snellen approssimativo da 20/32 a 20/100).
 - Occhio non di studio: 35 lettere ETDRS di BCVA o più (equivalente di Snellen approssimativo di 20/200 o migliore).
- CST dell'occhio di studio alla visita di Screening $>$ 325 μ m usando Heidelberg Spectralis[®] con IRF che coinvolge il centro (centro 1 mm).
- Una diminuzione della vista nell'occhio di studio determinata come dovuta principalmente a EMD.
- Diagnosi iniziale di EMD entro 6 mesi dallo screening.
- Fino a 2 antecedenti iniezioni (0, 1, o 2) di anti-VEGF nell'occhio di studio.

- Se un antecedente anti-VEGF è stato somministrato all'occhio di studio, deve esservi stata una risposta di CST significativa (ad es. $\geq 10\%$ di riduzione) e nessuna reazione avversa ad anti-VEGF (ad es. infiammazione).
- Un intervallo minimo di 60 giorni tra l'ultima iniezione di anti-VEGF nell'occhio di studio e la randomizzazione al Giorno 1.

B. Criteri di esclusione

Soggetti che soddisfano qualsiasi dei seguenti criteri sono esclusi da questo studio:

- titolo di anticorpo neutralizzante anti-AAV2.7m8 documentato $> 1:125$ entro 6 mesi antecedentemente alla randomizzazione.
- Terapia genica oculare antecedente.
- Storia di allergia ad aflibercept, corticosteroidi o tintura di fluoresceina o fluoresceina sodica usata in angiografia (è ammessa un'allergia lieve suscettibile di trattamento).
- Storia o evidenza di qualsiasi delle seguenti malattie cardiovascolari entro 6 mesi dal dosaggio:
 - malattia cardiaca grave (ad es. classe funzionale III o IV della New York Heart Association [NYHA]) o evidenza clinica di angina instabile.
 - Sindrome coronarica acuta, infarto miocardico o rivascolarizzazione dell'arteria coronarica, accidente cerebrovascolare (CVA,

CerebroVascular Accident), attacco ischemico transitorio (TIA, Transient Ischemic Attack).

- Tachiaritmie ventricolari che richiedono trattamento continuativo, o aritmia non controllata.
- Ipertensione incontrollata definita come pressione sanguigna sistolica (SBP) >160 mmHg o pressione sanguigna diastolica (DBP) >100 mmHg, nonostante l'uso di medicinale di abbassamento della pressione sanguigna durante il periodo di screening. Se sono richiesti medicinali di abbassamento della pressione sanguigna, il soggetto deve essere sottoposto a una dose stabile dello stesso medicinale in modo continuato per 30 giorni antecedentemente alla randomizzazione.
- Qualsiasi storia di disturbi di sanguinamento in corso. L'uso di aspirina o di altri anticoagulanti (ad es. inibitori del Fattore Xa) non è un criterio di esclusione.
- Diabete non controllato definito come HbA1C >10%; o storia di chetoacidosi diabetica nei 3 mesi antecedenti la randomizzazione; o soggetti che, negli ultimi 3 mesi, hanno avviato un trattamento intensivo con insulina (una pompa o molteplici iniezioni giornaliere) o pianificano di farlo nei 3 mesi successivi.
- Storia di malattia autoimmune sistemica che richiede trattamento con steroidi sistemici o trattamenti immunosoppressivi (ad es. metotrexato, adalimumab).

- Farmaci sistemici noti per provocare edema maculare (ad es. fingolimod, tamoxifene, cloroquina/idrossicloroquina) o qualsiasi terapia sistemica con anti-VEGF antecedente.
- Noto per essere positivo a HIV o epatite virale attiva (a meno di cura documentata dopo trattamento per epatite C); storia nota di sifilide.
- Compromissione renale grave nota, come indicato da CrCl stimata <30 ml/min (mediante calcolo di Cockcroft-Gault); necessità o necessità anticipata di emodialisi durante il periodo di studio.
- Qualsiasi malessere febbrile entro 1 settimana antecedentemente alla randomizzazione.

In aggiunta, sono esclusi da questo studio soggetti che soddisfano qualsiasi tra i seguenti criteri di esclusione oculare nell'occhio di studio:

- retinopatia diabetica proliferativa (PDR) ad alto rischio al tempo dello screening, definita come: qualsiasi emorragia vitreale o preretinica, neovascolarizzazione altrove $>1/2$ area del disco all'interno di un'area equivalente allo standard ETDRS a 7 campi all'esame clinico, o neovascolarizzazione del disco $>1/3$ di area del disco all'esame clinico.
- Qualsiasi antecedente fotocoagulazione laser focale o a griglia o qualsiasi antecedente fotocoagulazione panretinica (PRP) nell'occhio di studio.
- Qualsiasi terapia con anti-VEGF nei 60 giorni precedenti la randomizzazione (sono ammesse fino a 2 iniezioni di anti-VEGF antecedenti, ma non possono essersi verificate nei 60 giorni antecedenti).

- Storia di neovascolarizzazione del segmento anteriore (ad es. neovascolarizzazione dell'iride [NVI] o glaucoma neovascolare [NVG]), emorragia vitreale significativa, proliferazione fibrovascolare o distacco retinico trazionale.
- Evidenza all'esame di anomalie strutturali a livello della fovea (ad es., essudati duri densi, anomalie del pigmento, atrofia foveale, trazione vitreomaculare o membrana epiretinica), sia all'esame clinico che all'OCT, ritenute contribuire all'edema maculare o alla compromissione visiva.
- Storia di malattia retinica nell'occhio di studio diversa da retinopatia diabetica, incluse degenerazione maculare legata all'età (nell'uno o l'altro degli occhi), occlusione della vena retinica, occlusione dell'arteria retinica, miopia patologica, ecc.
- Qualsiasi malattia oculare attuale o anamnestica di malattia oculare diversa da EMD che possa ridurre il potenziale di miglioramento visivo, confondere l'accertamento della macula o richiedere un intervento medico o chirurgico durante lo studio (ad es. cataratta significativa, trazione maculare) o qualsiasi evidenza di cataratta sottocapsulare posteriore.
- Storia di estrazione della cataratta o capsulotomia con granato di ittrio e alluminio (YAG) entro 3 mesi prima del Giorno 1.
- Storia di distacco retinico (con o senza riparazione) nell'occhio di studio.
- Storia di trabeculectomia o shunt per glaucoma o chirurgia del glaucoma minimamente invasiva (MIGS).

- Storia di vitrectomia o di altra chirurgia filtrante.
- Afachia o presenza di una lente intraoculare nella camera anteriore.
- Ipertensione oculare incontrollata o glaucoma nell'occhio di studio al momento della randomizzazione (definita come IOP >22 mmHg nonostante trattamento con medicinale anti-glaucoma) o uso corrente di più di 2 medicinali di abbassamento della IOP.
- Qualsiasi storia di trattamento con steroidi intraoculare o perioculare per qualsiasi condizione oculare (ad es. IVT Triesence, Iluvien o Ozurdex).
- Chirurgia refrattiva entro il periodo di 90 giorni antecedente lo Screening.
- Previa cheratoplastica penetrante, cheratoplastica endoteliale o radioterapia oculare.
- Qualsiasi antecedente intervento chirurgico vitreoretinico.

In aggiunta, soggetti che soddisfano qualsiasi dei seguenti criteri di esclusione oculare nell'occhio di studio o nell'occhio non di studio (*cioè*, l'"occhio compagno") sono esclusi da questo studio:

- qualsiasi storia di uveite o infiammazione intraoculare (grado traccia o superiore) a eccezione di una lieve infiammazione post-operatoria prevista risoltasi.

- Storia di elevazione della IOP correlata a somministrazione topica di steroidi.
- Storia nota di Herpes Simplex Virus (HSV) oculare, virus Varicella-zoster (VZV) o Cytomegalovirus (CMV), incluse uveite virale, retinite o cheratite.
- Evidenza di infezione oculare esterna, inclusi congiuntivite, calazio o blefarite significativa.
- Storia di toxoplasmosi oculare.

III Disegno dello studio

A. Trattamento di studio

Questo è uno studio multicentrico randomizzato in doppio cieco controllato a gruppi paralleli per valutare l'efficacia, sicurezza e tollerabilità di una singola iniezione IVT da 0,10 ml di AAV2.7m8-aflibercept. Due dosi di AAV2.7m8-aflibercept sono state indagate.

Sono eleggibili per l'arruolamento soggetti con diagnosi iniziale di EMD entro 6 mesi dallo screening e che abbiano ricevuto fino a 2 iniezioni antecedenti di terapia con anti-VEGF.

Approssimativamente 33 soggetti eleggibili sono randomizzati per ricevere una di due dosi di AAV2.7m8-aflibercept (6×10^{11} vg/occhio o 2×10^{11} vg/occhio), oppure a un braccio di controllo per ricevere un'iniezione oculare in fittizio con una precedente iniezione di aflibercept. I soggetti che sono assegnati a ricevere AAV2.7m8-aflibercept sono ulteriormente randomizzati a

ricevere un'iniezione oculare di aflibercept precedente oppure in fittizio. I bracci dello studio sono riassunti di seguito:

- braccio 1 (n=6): i soggetti ricevono AAV2.7m8-aflibercept a una dose di 6×10^{11} vg/occhio con una dose precedente di aflibercept.
- Braccio 2 (n=6): i soggetti ricevono AAV2.7m8-aflibercept a una dose di 6×10^{11} vg/occhio senza una dose precedente di aflibercept.
- Braccio 3 (n=6): i soggetti ricevono AAV2.7m8-aflibercept a una dose di 2×10^{11} vg/occhio con una dose precedente di aflibercept.
- Braccio 4 (n=6): i soggetti ricevono AAV2.7m8-aflibercept a una dose di 2×10^{11} vg/occhio senza una precedente dose di aflibercept.
- Braccio 5 (n=9): i soggetti ricevono solo aflibercept (controllo attivo).

Per mantenere il mascheramento dell'assegnazione del trattamento, i soggetti assegnati ai bracci con nessun aflibercept precedente al Giorno 1 o al braccio con nessun AAV2.7m8-aflibercept al Giorno 8 ricevono un'iniezione oculare in fittizio alla visita corrispondente. Solo un occhio per soggetto è selezionato come occhio di studio. Se entrambi gli occhi sono eleggibili, l'occhio con la BCVA peggiore è selezionato come occhio di studio.

Sia AAV2.7m8-aflibercept sia aflibercept sono somministrati tramite iniezione IVT. Iniezioni di IVT non vengono svolte se è presente infiammazione attiva. Una tecnica asettica con povidone-iodio è usata con anestesia topica o sottocongiuntivale. La procedura di iniezione oculare in fittizio è fatta nelle

stesse condizioni, ma con una siringa vuota senza ago (usando l'estremità smussata) premuta contro l'occhio per imitare un'iniezione.

Un sommario dei bracci in questo studio è fornito nella **Tabella 17**.

Tabella 17. Bracci di studio

Braccio	N	Giorno 1 Aflibercept IVT o in fittizio	Giorno 8 Dose di AAV2.7m8-aflibercept (vg/occhio)
1	6	Aflibercept	6×10^{11}
2	6	Fittizio	6×10^{11}
3	6	Aflibercept	2×10^{11}
4	6	Fittizio	2×10^{11}
5	9	Aflibercept	Fittizio

Dopo le iniezioni IVT assegnate il Giorno 1 e il Giorno 8, tutti i soggetti vengono seguiti alla Settimana 2, Settimana 4 e quindi ogni 4 settimane fino alla Settimana 48 dopo il Giorno 1 (ad es. Settimana 8, Settimana 12, Settimana 16, ecc.). Per mantenere il mascheramento, sia i soggetti che il personale che conduce gli accertamenti sono mascherati rispetto agli assegnamenti di trattamento per tutta la durata dello studio.

Tutti i soggetti sono seguiti per 48 settimane dopo la randomizzazione.

Una panoramica del disegno di studio è fornita nella **FIG. 29**.

B. Regime profilattico di steroidi topici

A tutti i soggetti è somministrato un regime profilattico di corticosteroidi topici di 7 settimane di difluprednato (lo 0,05%; ad es., Durezol) a partire dal Giorno 1. Ai soggetti è ordinato di auto-somministrarsi difluprednato quattro volte al giorno (QID) per 4 settimane (*cioè*, dal Giorno 1 al Giorno 28), seguito da tre volte al giorno (TID) per 1 settimana (*cioè*, per 7 giorni), seguito da due volte al giorno (BID) per 1 settimana (*cioè*, 7 giorni) e infine una volta al giorno (QD) per 1 settimana (*cioè*, 7 giorni). La riduzione progressiva non viene cominciata in presenza di infiammazione attiva. Questo regime è prolungato qualora si verificano segni di infiammazione. Un sommario del regime di difluprednato è fornito nella **Tabella 18**.

Tabella 18. Regime di difluprednato

Giorni di studio	Numero totale di giorni	Somministrazioni di difluprednato al giorno
Giorni da 1 a 28	28	4 volte
Giorni da 29 a 35	7	3 volte
Giorni da 36 a 42	7	2 volte
Giorni da 43 a 49	7	1 volta
Giorno 50	0	STOP - se non sono presenti segni di infiammazione

C. Trattamento di salvataggio

A partire dalla Settimana 8, i soggetti ricevono aflibercept di salvataggio (2 mg IVT) se soddisfano qualsiasi dei seguenti:

- aumento di CST > 50 μm come accertato mediante SD-OCT in confronto alla più bassa tra le due misurazioni di CST registrate al Giorno 1 o alla Settimana 4.

- Perdita di > 5 lettere nella BCVA dovuta al peggioramento dell'attività della malattia EMD in confronto alla più alta tra le due misurazioni di BCVA registrate al Giorno 1 o alla Settimana 4.

Aflibercept non è iniettato in occhi con infiammazione attiva. È richiesto un minimo di 21 giorni tra iniezioni di aflibercept di salvataggio.

D. Medicinali e trattamenti

Durante lo studio sono proibiti i seguenti medicinali:

- qualsiasi agente anti-VEGF sistemico, incluso bevacizumab.
- Farmaci sistemici noti per provocare edema maculare (ad es. fingolimod, tamoxifene, cloroquina/idrossicloroquina).
- Qualsiasi agente anti-VEGF nell'occhio di studio diverso dal farmaco di studio o da 2 mg IVT di aflibercept.
- Steroidi IVT nell'occhio di studio (ad es., Ozurdex o Iluvien Triesence).
- Farmaci immunosoppressori sistemici (ad es. steroidi per via endovenosa, metotrexato, azatioprina, ciclosporina, adalimumab, infliximab, etanercept). Sono ammessi steroidi per via inalatoria o topici e FANS.

I soggetti che sviluppano PDR ad alto rischio nell'occhio di studio ricevono fotocoagulazione panretinica (PRP) dopo aver ricevuto aflibercept di salvataggio.

I soggetti con cataratta visivamente significativa non sono arruolati nello studio, ma se durante lo studio si sviluppa una cataratta, una chirurgia della cataratta nell'occhio dello studio può essere svolta se clinicamente indicato e se è pianificata a > 90 giorni dopo la somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept e/o > 7 giorni dopo l'ultima iniezione di aflibercept.

I soggetti che sviluppano EMD nell'occhio compagno (non di studio) possono ricevere una terapia standard di cura.

IV. Accertamenti di studio

A. Esame fisico generale e segni vitali

Un esame fisico generale (PE, Physical Examination) è condotto allo screening e alla visita di fine studio (EOS) o di terminazione precoce. Consiste nell'esame dei sistemi corporei per aspetto generale, neurologico, HEENT (testa, occhi, orecchie, naso e gola), collo, cardiovascolare, respiratorio, addome, estremità, cute, peso e altezza. Alla visita EOS o di terminazione precoce, l'esame fisico accerta se si sono verificati cambiamenti nella condizione fisica del soggetto dall'esame di Screening. Un esame fisico mirato è condotto come necessario per la valutazione degli EA.

I segni vitali sono costituiti da pressione arteriosa, frequenza cardiaca, temperatura corporea e frequenza respiratoria. Un elettrocardiogramma (ECG)

a 12 derivazioni è preso per ciascun soggetto allo Screening e all'EOS o alla visita di terminazione precoce.

B. Prove di laboratorio, espressione del vettore e risposta immunitaria

Per lo studio vengono condotte le seguenti prove cliniche di laboratorio: chimica, emocromo completo, HbA1C, esame delle urine e genotipizzazione HLA-B27.

I campioni dei soggetti (sia sangue che/o umor acqueo) sono raccolti per misurare quanto segue:

- anticorpi totali per AAV2.7m8: il siero per gli anticorpi anti-AAV2.7m8 totali è misurato in un saggio ELISA.
- Anticorpi neutralizzanti per AAV2.7m8: il siero per anticorpi neutralizzanti anti-AAV2.7m8 è misurato in un saggio basato su cellule.
- Anticorpi anti-aflibercept: il siero per la risposta immunitaria umorale contro aflibercept è misurato in un saggio ELISA.
- Espressione della proteina aflibercept: campioni di siero e di umor acqueo sono raccolti per la presenza di proteina aflibercept da misurare in un saggio MesoScale Discovery.
- Risposta immunitaria cellulo-mediata: l'immunità cellulare contro il capsido di AAV2.7m8 e la proteina aflibercept è misurata in un saggio ELISPOT.

C. Esame oftalmico pieno

Gli accertamenti di studio includono un esame oftalmologico, pressione intraoculare (IOP), e oftalmoscopia indiretta.

L'esame oftalmico consiste in un esame esterno dell'occhio e degli annessi, uno screening di routine per la responsività delle palpebre/pupille (inclusi, ma non limitati a, blefaroptosi, sagoma anomala della pupilla, pupille disuguali, reazione anomala alla luce e difetto pupillare afferente) ed esame con lampada a fessura (palpebre, congiuntiva, cornea, cristallino, iride, camera anteriore). L'esame con lampada a fessura esamina le strutture oculari anteriori ed è usato per l'assegnazione di punteggio a qualsiasi riscontro. Se qualsiasi riscontro è notato durante l'esame con lampada a fessura, in qualsiasi visita, la gravità ottiene un punteggio e il riscontro è descritto come clinicamente significativo o non clinicamente significativo.

Le misurazioni della IOP sono svolte usando un tonometro ad appianazione di Goldmann o Tono-pen™. Lo stesso metodo di misurazione della IOP è usato in tutto lo studio per ciascun soggetto individuale. Le misurazioni della IOP sono svolte antecedentemente a qualsiasi iniezione IVT e antecedentemente alla dilatazione degli occhi, usando lo stesso metodo per tutto lo studio. Le visite del Giorno 1 e del Giorno 8 richiedono misurazioni della IOP pre-iniezione e post-iniezione (30 minuti dopo l'iniezione).

L'esame di oftalmoscopia indiretta dilatata include una valutazione di anomalie del segmento posteriore del vitreo, nervo ottico, retina periferica, e vascolarizzazione retinica. Se qualsiasi riscontro è notato durante l'oftalmoscopia, a qualsiasi visita, la gravità ottiene un punteggio e il riscontro è descritto come clinicamente significativo o non clinicamente significativo. Le

visite del Giorno 1 e Giorno 8 richiedono accertamenti di oftalmoscopia indiretta pre-iniezione e post-iniezione.

D. Rifrazione e acuità visiva

La rifrazione e la BCVA vengono misurate. Le misurazioni dell'acuità visiva vengono misurate a una distanza di partenza di 4 metri, antecedentemente alla dilatazione degli occhi.

E. Imaging

La tomografia a coerenza ottica nel dominio spettrale (SD-OCT) è una tecnica interferometrica che fornisce informazioni sulla struttura dei tessuti risolte in profondità, codificate nell'ampiezza e nel ritardo della luce retrodiffusa mediante analisi spettrale del motivo di frange di interferenza. Se un soggetto ha ricevuto iniezioni di anti-VEGF in visite antecedenti la randomizzazione dello studio, OCT da quelle visite vengono raccolte e presentate al centro di lettura centrale.

L'angiografia con tomografia a coerenza ottica (OCT-A, Optical Coherence Tomography Angiography) è una tecnologia di imaging che fornisce mappe tridimensionali volumetriche della retina e della coroide, nonché informazioni sul flusso sanguigno. Vi sono due tipi di OCT-A, swept-source e a dominio spettrale. Ove disponibile, è usato l'imaging swept-source. Se uno strumento swept-source non è disponibile ed è disponibile uno strumento a dominio spettrale, allora è usato lo strumento a dominio spettrale.

Vengono seguite procedure standardizzate per la raccolta di immagini fotografiche digitali del fundus a campo ultra-ampio della retina, disco ottico e

macula. In aggiunta, fotografie dell'iride vengono prese antecedentemente alla dilatazione.

È seguita una procedura standardizzata per esaminare la circolazione retinica e la permeabilità vascolare usando un metodo di tracciamento con tintura. Questo comporta un'iniezione di fluoresceina sodica nella circolazione sistemica, dopo di che un angiogramma è ottenuto fotografando digitalmente la fluorescenza emessa dopo l'illuminazione della retina con luce blu a una lunghezza d'onda di 490 nm.

F. Provini di laboratorio, biomarcatori e altri biologici

Campioni di umor acqueo vengono raccolti e analizzati per livelli di aflibercept, VEGF-A, anticorpi neutralizzanti (NAb) e biomarcatori aggiuntivi. Campioni di umor vitreo vengono ottenuti e analizzati per le concentrazioni di aflibercept e altri biomarcatori.

G. Sicurezza

Dopo la somministrazione del trattamento di studio, tutti gli eventi avversi (EA) clinicamente significativi sono riportati. Ciascun soggetto è seguito fino a a) la fine del periodo di segnalazione degli EA a 30 giorni dopo l'ultima visita di studio oppure b) per qualsiasi EA correlato al trattamento di studio e/o EA serio (SAE) in corso fino a quando risolto o stabile. Qualsiasi accertamento di sicurezza clinicamente significativo che è associato a EMD non è riportato come EA o SAE, a meno che sia giudicato più grave di quanto atteso per la condizione del soggetto. La progressione della malattia in studio è rilevata come esito di efficacia.

Gli eventi avversi di particolare interesse per questo studio includono:

- eventi avversi che minacciano la visione: un evento avverso è considerato una minaccia per la visione se soddisfa uno o più dei seguenti criteri:
 - provoca una diminuzione di ≥ 30 lettere nella BCVA in confronto alla visita antecedente.
 - Richiede un intervento chirurgico o medico (cioè chirurgia convenzionale, vitrectomia) per prevenire una perdita permanente della visione.
 - Provoca grave infiammazione intraoculare (cioè, endoftalmite, 4+ cellule/flare nella camera anteriore, o 4+ cellule vitreali).

Tutti gli eventi avversi che minacciano la visione sopra elencati sono riportati come eventi avversi seri, elencando la causa sottostante (se nota) dell'evento come termine di evento primario.

H. Efficacia

L'efficacia di AAV2.7m8-aflibercept nel trattamento di EMD è accertata mediante le seguenti misure. I valori basali per gli endpoint di BCVA e SD-OCT si riferiscono a misurazioni pre-trattamento prese alla visita del Giorno 1, quando vengono somministrati aflibercept IVT o iniezione oculare in fittizio.

- BCVA: la vista è accertata principalmente attraverso la BCVA espressa come punteggio ETDRS (numero di lettere lette correttamente). Il mantenimento della vista è classificato se il soggetto ha perso meno di 15 lettere nel punteggio ETDRS in confronto al Basale. Gli endpoint calcolati

includono il cambiamento medio aritmetico dal Basale, la percentuale di guadagno di almeno 15 lettere in confronto al Basale, e la percentuale di perdita di 15 o più lettere in confronto al Basale.

- Spessore del sottocampo centrale: l'SD-OCT è svolta usando apparecchiature e tecniche standard approvate per valutare lo spessore e il fluido in confronto ai valori del Basale. Gli endpoint includono CST e volume maculare.
- Ritrattamenti con aflibercept: l'incidenza e la tempistica delle iniezioni di aflibercept date post-trattamento con AAV2.7m8-aflibercept nel tempo.
- Per ciascun punto temporale, la Scala di gravità della retinopatia diabetica (DRSS) è determinata usando la fotografia a colori del fundus a campo ultra ampio e confrontata con il Giorno 1.
- Complicanze che minacciano la vista (neovascolarizzazione del segmento anteriore, edema maculare diabetico, sviluppo di PDR ad alto rischio, emorragia vitreale o distacco retinico trazionale), come determinato mediante imaging a campo ultra ampio ed esame clinico.

I. Analisi statistiche

La popolazione di analisi principale include tutti i soggetti randomizzati che ricevono il trattamento di studio il Giorno 8 (AAV2.7m8-aflibercept IVT o iniezione oculare in fittizio). Tutte le variabili di sicurezza ed efficacia sono riassunte in modo descrittivo per ciascun braccio di trattamento. La media aritmetica, la deviazione standard (DS), la mediana e il range sono forniti per le

variabili continue; e le conte e percentuali di frequenza sono fornite per le variabili categoriali. Gli intervalli di confidenza delle medie aritmetiche e delle percentuali sono forniti ai livelli sia del 90% sia del 95%. Un'analisi di sopravvivenza di Kaplan-Meier è utilizzata per ricavare il tempo mediano alla prima occorrenza di peggioramento della malattia EMD. Tutti gli aflibercept di salvataggio (2 mg IVT) ricevuti da ciascun soggetto durante lo studio sono riassunti usando modelli statistici per eventi ricorrenti. La curva della funzione cumulativa media aritmetica (MCF, Mean Cumulative Function) nel tempo è tracciata in grafico per il numero cumulativo medio aritmetico di iniezioni. I modelli a effetti misti per misure ripetute (MMRM, Mixed-effect Models for Repeated Measures) sono impiegati per esplorare l'effetto del trattamento sul cambiamento nel tempo di BCVA e CST. L'effetto del trattamento sui cambiamenti della DRSS nel tempo è esplorato usando modelli misti generalizzati per esiti categoriali. Un'analisi a interim (IA, Interim Analysis) si verifica dopo che tutti i soggetti sono stati seguiti per 24 settimane.

Esempio 7: risultati aggiuntivi di uno studio di Fase 1 in aperto su AAV2.7m8-aflibercept nella degenerazione maculare legata all'età neovascolare (umida)

Questo Esempio descrive i risultati per le Coorti 1, 2, 3 e 4 dello studio di Fase 1 descritto negli Esempi 1-5 che ha accertato la sicurezza ed efficacia di una singola iniezione intravitreale di AAV2.7m8-aflibercept in soggetti con wAMD. Risultati di sicurezza ed efficacia sono forniti per la Coorte 1 a un tempo di follow-up mediano di 72 settimane (range di 64-84 settimane), per la Coorte 2 a un tempo di follow-up mediano di 52 settimane (range di 52-56 settimane), per la Coorte 3 a un tempo di follow-up mediano di 36 settimane (range 20-40

settimane), e per la Coorte 4 a un tempo di follow-up mediano di 4 settimane (range 2-8 settimane).

Risultati

Ai soggetti nella Coorte 1 è stata somministrata una singola iniezione IVT di AAV2.7m8-aflibercept a una dose di 6×10^{11} vg/occhio. Ai soggetti nella Coorte 2 è stata somministrata una singola iniezione IVT di AAV2.7m8-aflibercept a una dose di 2×10^{11} vg/occhio. Ai soggetti nelle Coorti 1 e 2 è stato somministrato anche un regime profilattico di prednisone orale (*si veda la **Tabella 2***).

Ai soggetti nella Coorte 3 è stata somministrata una singola iniezione IVT di AAV2.7m8-aflibercept a una dose di 2×10^{11} vg/occhio. Ai soggetti nella Coorte 4 è stata somministrata una singola iniezione IVT di AAV2.7m8-aflibercept a una dose di 6×10^{11} vg/occhio. Ai soggetti nelle Coorti 3 e 4 è stato somministrato un regime profilattico di corticosteroidi topici di 6 settimane (*si vedano l'Esempio 5 e la **Tabella 11B***).

Caratteristiche del soggetto

Le caratteristiche al basale per soggetti nelle Coorti 1-4 erano ben bilanciate, con età simili e media aritmetica simile precedentemente alle iniezioni di anti-VEGF, e una necessità simile di iniezioni frequenti per mantenere una vista basale di circa 65 lettere ETDRS in tutte le coorti. Alcuni soggetti nella Coorte 4 hanno ricevuto una diagnosi più di recente rispetto ad altre coorti, ad es. meno di 12 mesi precedentemente a una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept, pertanto il numero medio aritmetico di iniezioni di anti-VEGF precedenti è più basso. Nel complesso, i soggetti nelle Coorti 1-4

avevano una buona vista ed erano difficili da trattare, con del fluido con frequente trattamento con iniezioni di anti-VEGF. Le caratteristiche del soggetto al basale per i soggetti nelle Coorti 1-4 sono fornite nella **Tabella 19**.

Tabella 19. Caratteristiche al basale dei soggetti nelle Coorti 1-4

Caratteristiche al basale	Coorte 1 (N=6)	Coorte 2 (N=6)	Coorte 3 (N=9)	Coorte 4 (N=9)
Età media aritmetica (range), anni	79,0 (62-88)	79,8 (74-90)	77,4 (65-90)	79,9 (68-88)
Anni medi aritmetici (range) dalla diagnosi di nAMD	3,5 (0,9- 10,6)	4,1 (0,5-6,8)	3,3 (0,7-8,0)	3,2 (0,2-8,0)
Numero medio aritmetico (range) di iniezioni di anti- VEGF dalla diagnosi iniziale*	32,2 (7-109)	34,0 (4-69)	24,8 (9-70)	28,5 (2-58)**
Numero medio aritmetico (range) di iniezioni di anti- VEGF nei 12 mesi antecedentemente ad AAV2.7m8-aflibercept	9,2 (8-11)	9,2 (5-11)	9,1 (7-10)	6,8 (3-12)**
BCVA media aritmetica (range), lettere ETDRS	65,8 (57-77)	64,7 (53-72)	65,9 (53-75)	65,0 (54-77)
Equivalente di Snellen approssimativo	20/50	20/50	20/50	20/50
CST medio aritmetico (range), µm	369,2 (293-561)	307,7 (235-339)	473,4 (301-857)	398,6 (255-538)
*Non includendo l'aflibercept obbligatorio allo Screening; **escludendo il Soggetto 2 con dati antecedenti anti-VEGF incompleti a causa di trasferimento. BCVA, migliore acuità visiva corretta; CST, spessore del sottocampo centrale; ETDRS, studio Early Treatment Diabetic Retinopathy Study; nAMD, degenerazione maculare neovascolare legata all'età; VEGF, fattore di crescita dell'endotelio vascolare.				

Sicurezza

Non si sono verificati decessi, interruzioni del trattamento o eventi avversi non oculari correlati ad AAV2.7m8-aflibercept.

Quando osservata, l'infiammazione era responsiva a e gestita mediante steroidi topici. Non è stata osservata alcuna evidenza clinica o con fluoresceina (angiografia con fluoresceina del polo posteriore) di infiammazione posteriore. In aggiunta, non si sono verificate vasculiti, retiniti, coroiditi, occlusioni vascolari o endoftalmiti.

Tutti gli eventi avversi oculari correlati ad AAV2.7m8-aflibercept sono stati di grado lieve (78%) o moderato (22%).

Si è verificato un evento avverso di speciale interesse (AESI) di uveite moderata ricorrente ed è stato ritenuto correlato ad AAV2.7m8-aflibercept (Coorte 1). L'uveite moderata ricorrente AESI è stata responsiva a colliri a base di steroidi. In aggiunta, un evento avverso serio (SAE) oculare di distacco retinico non correlato al trattamento si è verificato ed è stato riparato e risolto chirurgicamente (Coorte 1).

Due soggetti hanno avuto lievi eventi avversi di lieve elevazione della pressione intraoculare (IOP) che si sono risolti. Un soggetto dalla Coorte 1 ha avuto due lievi elevazioni della IOP (la più alta in assoluto di 24 mmHg) che sono state entrambe trattate con colliri Combigan®. Il secondo soggetto stava prendendo Combigan® per l'ipertensione oculare, e l'evento avverso della IOP si è risolto spontaneamente entro un mese con nessun cambiamento nel trattamento.

Nel complesso, AAV2.7m8-aflibercept è stato ben tollerato e non vi sono stati eventi avversi sistemici attribuiti ad AAV2.7m8-aflibercept.

Un sommario dei risultati di sicurezza nelle Coorti 1-4 di questo studio è fornito nella Tabella 20.

Tabella 20. Eventi avversi nelle Coorti 1-4

Eventi avversi	Coorte 1 (N=6)		Coorte 2 (N=6)		Coorte 3 (N=9)		Coorte 4 (N=9)	
	6×10 ¹¹ vg/occhio di profilassi di 13 giorni con steroidi orali		2×10 ¹¹ vg/occhio di profilassi di 13 giorni con steroidi orali		2×10 ¹¹ vg/occhio di profilassi di 6 settimane con colliri a base di steroidi		6×10 ¹¹ vg/occhio di profilassi di 6 settimane con colliri a base di steroidi	
Oculare	Soggetti	Eventi	Soggetti	Eventi	Soggetti	Eventi	Soggetti	Eventi
Serio	2	2*	0	0	0	0	0	0
Correlato**	6	30	5	21	5	14	5	12
Totale oculare	6	51	5	32	8	26	7	15
Non oculare†	Soggetti	Eventi	Soggetti	Eventi	Soggetti	Eventi	Soggetti	Eventi
Serio ‡	1	1	0	0	2	2	0	0
Totale non oculare†	5	18	6	7	4	9	1	1

*Distacco retinico (non correlato ad AAV2.7m8-aflibercept) e uveite moderata ricorrente (verosimilmente correlata ad AAV2.7m8-aflibercept).

**Gli eventi oculari correlati ad AAV2.7m8-aflibercept sono stati lievi (78%) o moderati (22%).

† Nessuno degli EA non oculari era correlato ad aflibercept AAV2.7m8.

‡ Gli EA non oculari seri includevano malattia degenerativa del disco intervertebrale (1) nella Coorte 1; e riacutizzazione della BPCO (1) e angina pectoris stabile (1) nella Coorte 3.

Eventi avversi correlati ad AAV2.7m8-aflibercept che si sono verificati nelle Coorti 1-4, riportati mediante il termine preferito MedDRA, sono forniti nella **Tabella 21**.

Tabella 21. EA correlati ad AAV2.7m8-aflibercept per termine preferito nelle Coorti 1-4

Termine preferito MedDRA	Coorte 1 (N=6)		Coorte 2 (N=6)		Coorte 3 (N=9)		Coorte 4 (N=9)	
	Eventi	Soggetti	Eventi	Soggetti	Eventi	Soggetti	Eventi	Soggetti
Qualsiasi evento	30	6	21	5	14	5	12	5
Cellula di camera anteriore	4	3	7	4	2	2	4	4
Flare della camera anteriore	5	3	3	2	0	0	2	2
Cellule vitreali	4	3	2	2	1	1	2	2
Precipitati cheratici	2	1	3	2	2	2	1	1
Infiammazione della camera anteriore	3	1	0	0	2	1	0	0
Iperpigmentazione dell'iride	2	2	1	1	1	1	0	0
Pigmentazione della camera anteriore	0	0	1	1	2	1	0	0
Uveite	3	2	0	0	0	0	0	0
Corpi mobili vitreali	2	2	0	0	0	0	1	1
Aderenze dell'iride	0	0	0	0	2	2	0	0

Termine preferito MedDRA	Coorte 1 (N=6)		Coorte 2 (N=6)		Coorte 3 (N=9)		Coorte 4 (N=9)	
	Eventi	Soggetti	Eventi	Soggetti	Eventi	Soggetti	Eventi	Soggetti
Difetto di transilluminazione dell'iride	0	0	0	0	1	1	1	1
Torbidità vitreale	1	1	1	1	0	0	0	0
Iridociclite	0	0	1	1	0	0	0	0
Iride bombé	1	1	0	0	0	0	0	0
Irite	0	0	0	0	1	1	0	0
Pigmentazione lenticolare	0	0	1	1	0	0	0	0
Miosi	1	1	0	0	0	0	0	0
Pupilla fissa	1	1	0	0	0	0	0	0
Pigmentazione retinica	1	1	0	0	0	0	0	0
Acuità visiva ridotta	0	0	1	1	0	0	0	0
Vitrite	0	0	0	0	0	0	1	1

Gli eventi avversi oculari che si sono verificati con una frequenza di ≥ 2 eventi, riportati secondo il termine preferito MedDRA, sono forniti nella **Tabella 22**.

Tabella 22. EA oculari per termine preferito (in ≥ 2 eventi)

Termine preferito MedDRA	Coorte 1 (N=6)		Coorte 2 (N=6)		Coorte 3 (N=9)		Coorte 4 (N=9)	
	Eventi	Soggetti	Eventi	Soggetti	Eventi	Soggetti	Eventi	Soggetti
Qualsiasi evento*	51	6	32	5	26	8	15	7
Cellula di camera anteriore	5	4	7	4	2	2	4	4
Flare della camera anteriore	5	3	3	2	0	0	2	2
Emorragia congiuntivale	3	3	2	2	1	1	3	3
Cellule vitreali	4	3	2	2	1	1	2	2
Precipitati cheratici	2	1	3	2	2	2	1	1
Corpi mobili vitreali	4	3	0	0	2	2	1	1
Infiammazione della camera anteriore	3	1	0	0	2	1	0	0
Pigmentazione della camera anteriore	0	0	1	1	3	2	0	0
Iperpigmentazione dell'iride	2	2	1	1	1	1	0	0
Opacizzazione della capsula posteriore	0	0	2	2	2	2	0	0
Pressione intraoculare aumentata	2	1	0	0	1	1	0	0
Aderenze dell'iride	1	1	0	0	2	2	0	0
Edema maculare	0	0	3	1	0	0	0	0
Emorragia retinica	2	1	0	0	1	1	0	0
Uveite	3	2	0	0	0	0	0	0
Occhio secco	2	2	0	0	0	0	0	0

Termine preferito MedDRA	Coorte 1 (N=6)		Coorte 2 (N=6)		Coorte 3 (N=9)		Coorte 4 (N=9)	
	Eventi	Soggetti	Eventi	Soggetti	Eventi	Soggetti	Eventi	Soggetti
Difetto di transilluminazione dell'iride	0	0	0	0	1	1	1	1
Pigmentazione lenticolare	1	1	1	1	0	0	0	0
Pigmentazione retinica	1	1	0	0	1	1	0	0
Torbidity vitreale	1	1	1	1	0	0	0	0
*Include termini riportati in un solo evento.								

Gli eventi avversi non oculari che si sono verificati con una frequenza di ≥ 2 eventi, riportati mediante il termine preferito MedDRA, sono forniti nella

Tabella 23.

Tabella 23. EA non oculari per termine preferito (in ≥ 2 eventi)

Termine preferito MedDRA	Coorte 1 (N=6)		Coorte 2 (N=6)		Coorte 3 (N=9)		Coorte 4 (N=9)	
	Eventi	Soggetti	Eventi	Soggetti	Eventi	Soggetti	Eventi	Soggetti
Qualsiasi evento*	18	5	7	6	9	4	1	1
Artrite	1	1	1	1	0	0	0	0
Fibrillazione atriale	1	1	1	1	0	0	0	0
Bronchite	0	0	0	0	2	1	0	0
Broncopneumopatia cronica ostruttiva	0	0	0	0	2	1	0	0

Termine preferito MedDRA	Coorte 1 (N=6)		Coorte 2 (N=6)		Coorte 3 (N=9)		Coorte 4 (N=9)	
	Eventi	Soggetti	Eventi	Soggetti	Eventi	Soggetti	Eventi	Soggetti
Ipertensione	0	0	2	2	0	0	0	0
Nasofaringite	2	1	0	0	0	0	0	0
Dolore post-traumatico	0	0	0	0	2	1	0	0
*Include termini riportati in un solo evento.								

Un sommario di eventi avversi seri, lievi e moderati oculari e non oculari osservati nelle Coorti 1-4 di questo studio è fornito nella **Tabella 24**.

Tabella 24. Eventi avversi nelle Coorti 1-4

Eventi avversi	Coorte 1 (N=6) 6×10 ¹¹ vg/occhio di profilassi di 13 giorni con steroidi orali		Coorte 2 (N=6) 2×10 ¹¹ vg/occhio di profilassi di 13 giorni con steroidi orali		Coorte 3 (N=9) 2×10 ¹¹ vg/occhio di profilassi di 6 settimane con colliri a base di steroidi		Coorte 4 (N=9) 6×10 ¹¹ vg/occhio di profilassi di 6 settimane con colliri a base di steroidi	
	Soggetti	Eventi	Soggetti	Eventi	Soggetti	Eventi	Soggetti	Eventi
Oculare								
Serio	2	2*	0	0	0	0	0	0
Correlato**	6	30	5	21	5	14	5	12
Lieve	6	22	4	14	5	12	5	12
Moderato	3	8	2	7	2	2	0	0

Totale oculare	6	51	5	32	8	26	7	15
Non oculare[†]	Soggetti	Eventi	Soggetti	Eventi	Soggetti	Eventi	Soggetti	Eventi
Serio [‡]	1	1	0	0	2	2	0	0
Totale non oculare [†]	5	18	6	7	4	9	1	1
<p>*Distacco retinico (non correlato al trattamento in studio) e uveite moderata ricorrente (verosimilmente correlata al trattamento di studio).</p> <p>**Gli eventi oculari correlati al trattamento di studio sono stati lievi (78%) o moderati (22%).</p> <p>†Nessuno degli EA non oculari è stato correlato al trattamento di studio.</p> <p>‡Gli EA non oculari seri includevano malattia degenerativa del disco intervertebrale (1) nella Coorte 1; e riacutizzazione della BPCO (1) e angina pectoris stabile (1) nella Coorte 3.</p>								

Come mostrato nelle **FIGG. 22A-22D**, quando osservata, l'infiammazione era principalmente nel segmento anteriore ed era responsiva a e gestita mediante steroidi topici. Non è stata osservata alcuna evidenza di infiammazione posteriore e non ci sono stati casi di vasculite.

Come mostrato nella **FIG. 22A**, due soggetti (Soggetti 2 e 6) nella Coorte 1 che in precedenza ricevevano colliri a base di steroidi QD con nessuna infiammazione attiva hanno susseguentemente interrotto le gocce. Il Soggetto 2 ha avuto uveite moderata ricorrente in seguito all'interruzione ed ha ricominciato con i colliri a base di steroidi. L'infiammazione è migliorata e il soggetto ha ripreso la riduzione progressiva dei colliri a base di steroidi. Al momento del taglio dei dati, il Soggetto 4 stava ricevendo colliri a base di steroidi BID e aveva tracce di infiammazione dopo intervento chirurgico di

distacco retinico. Il Soggetto 6 non stava ricevendo alcun collirio a base di steroidi e non aveva alcuna infiammazione. Nel complesso, l'infiammazione nei soggetti nella Coorte 1 si stava risolvendo, con solo 2 soggetti su 6 che continuavano il trattamento con colliri a base di steroidi al momento del taglio dei dati. I risultati della Coorte 1 hanno mostrato che tutti i soggetti sono risultati responsivi a steroidi topici e tendevano alla riduzione progressiva degli steroidi al tempo della chiusura dei dati.

Nella Coorte 2, 4 soggetti su 6 erano privi di infiammazione e 2 soggetti su 6 continuavano a ricevere colliri a base di steroidi al momento del taglio dei dati (**FIG. 22B**). Il Soggetto 3 ha ricevuto steroidi topici intorno alla Settimana 46 dopo l'intervento di cataratta. Al momento del taglio dei dati, il Soggetto 1 stava ricevendo colliri a base di steroidi QD e il Soggetto 6 aveva un'infiammazione di basso grado e continuava con colliri a base di steroidi. Nel complesso, l'infiammazione nei soggetti nella Coorte 2 si stava risolvendo, con tutti i soggetti superanti il traguardo delle 52 settimane (1 anno) al momento del taglio dei dati.

Nella Coorte 3, 6 soggetti su 9 erano privi di infiammazione al momento del taglio dei dati (**FIG. 22C**) e tutti erano oltre il traguardo delle 20 settimane. Al momento del taglio dei dati, i Soggetti 2, 3 e 4 stavano ricevendo colliri a base di steroidi. Il Soggetto 4 ha iniziato un trattamento con durezol BID alla Settimana 24 a causa di una scarsa dilatazione pupillare e di sinechie posteriori verosimilmente correlate a infiammazione subclinica. 3 soggetti su 9 hanno continuato a ricevere colliri a base di steroidi al momento del taglio dei dati.

Come mostrato nella **FIG. 22D**, i soggetti nella Coorte 4 hanno mostrato infiammazione precoce da minima a nulla con colliri a base di steroidi, coerente

con i risultati osservati per la Coorte 3. I Soggetti 1, 2 e 3 avevano un'inflammatione anteriore e continuavano a ricevere colliri a base di steroidi al momento del taglio dei dati.

Il regime profilattico di steroidi topici di 6 settimane somministrato alle Coorti 3 e 4 ha mostrato evidenza di inflammatione meno attiva (**FIGG. 22C-22D**) in confronto al regime di steroidi orali somministrato alle Coorti 1 e 2 (**FIGG. 22A-22B**).

Efficacia

La **FIG. 23A** mostra la BCVA media aritmetica (lettere ETDRS) dal basale fino alla Settimana 72 per i soggetti nella Coorte 1. A un tempo di follow-up mediano di 72 settimane (range di 64-84 settimane), i soggetti nella Coorte 1 hanno avuto un cambiamento di BCVA medio aritmetico dal basale di -3,2 lettere e il 100% dei soggetti (6/6) non aveva ricevuto un'iniezione di anti-VEGF di salvataggio. L'evidente diminuzione della BCVA media aritmetica alle Settimane 44 e 48 era dovuta a un soggetto che ha esperito un SAE di distacco retinico. Nel complesso, i punteggi di BCVA nei soggetti nella Coorte 1 sono rimasti stabili fino a 72 settimane. La **FIG. 23B** mostra il CST medio aritmetico (μm) dal basale fino alla Settimana 72 per soggetti nella Coorte 1. A un tempo di follow-up mediano di 72 settimane (range di 64-84 settimane), i soggetti nella Coorte 1 avevano un cambiamento di CST medio aritmetico dal basale di -21,0 μm . Nel complesso, le misurazioni di CST nella Coorte 1 hanno mostrato che l'anatomia è stata mantenuta fino alla settimana 72 per tutti i soggetti. Il calo e il cambiamento osservati nelle barre di errore alle Settimane 68 e 72 nella **FIG. 23B** sono stati dovuti all'esclusione di 1 soggetto che ha sempre avuto una retina molto spessa.

La **FIG. 24A** mostra la BCVA media aritmetica (lettere ETDRS) dal basale fino alla Settimana 52 per soggetti nella Coorte 2. A un tempo di follow-up mediano di 52 settimane (range di 52-56 settimane), i soggetti nella Coorte 2 avevano un cambiamento di BCVA medio aritmetico dal basale di -2,0 lettere e il 50% dei soggetti (3/6) non aveva ricevuto un'iniezione di anti-VEGF di salvataggio. I soggetti che non avevano ricevuto un'iniezione di anti-VEGF di salvataggio hanno avuto un cambiamento di BCVA medio aritmetico dal basale di +0 lettere. Nel complesso, i punteggi di BCVA nei soggetti nella Coorte 2 sono rimasti stabili oltre le 52 settimane. La **FIG. 24B** mostra il CST medio aritmetico (μm) dal basale fino alla Settimana 52 per soggetti nella Coorte 2. A un tempo di follow-up mediano di 52 settimane (range di 52-56 settimane), i soggetti nella Coorte 2 avevano un cambiamento di CST medio aritmetico dal basale di -24,8 μm . In aggiunta, i soggetti che non avevano ricevuto un'iniezione di anti-VEGF di salvataggio hanno avuto un cambiamento di CST medio aritmetico dal basale di -8,3 μm . Nel complesso, le misurazioni di CST nella Coorte 2 hanno mostrato che l'anatomia è stata mantenuta oltre la settimana 52.

La **FIG. 25A** mostra la BCVA media aritmetica (lettere ETDRS) dal basale fino alla Settimana 20 per soggetti nella Coorte 3. A un tempo di follow-up mediano di 36 settimane (range 20-40 settimane), i soggetti nella Coorte 3 avevano un cambiamento di BCVA medio aritmetico dal basale di +4,0 lettere e il 78% (7/9) dei soggetti dalla Coorte 3 non aveva ricevuto un'iniezione di anti-VEGF di salvataggio. I soggetti che non avevano ricevuto un'iniezione di anti-VEGF di salvataggio hanno avuto un cambiamento di BCVA medio aritmetico dal basale di +6,4 lettere. Nel complesso, i punteggi di BCVA in soggetti nella Coorte 3 sono stati migliorati. La **FIG. 25B** mostra il CST medio aritmetico (μm)

dal basale fino alla Settimana 20 per soggetti nella Coorte 3. A un tempo di follow-up mediano di 36 settimane (range 20-40 settimane), i soggetti nella Coorte 3 avevano un cambiamento di CST medio aritmetico dal basale di -118,6 μm . In aggiunta, nei soggetti che non avevano ricevuto un'iniezione di anti-VEGF di salvataggio hanno avuto un cambiamento di CST medio aritmetico dal basale di -152,7 μm . Nel complesso, il CST medio aritmetico ha continuato a migliorare in tutti i 9 soggetti nella Coorte 3.

Come mostrato nel grafico a corsie di nuoto nella **FIG. 26**, nessun soggetto nella Coorte 1 ha ricevuto un'iniezione di anti-VEGF di salvataggio a un tempo di follow-up mediano di 72 settimane (range di 64-84 settimane). Nella Coorte 2 (tempo di follow-up mediano di 52 settimane; range di 52-56 settimane), il Soggetto 2 ha ricevuto un'iniezione di salvataggio di anti-VEGF (aflibercept), e i Soggetti 3 e 5 hanno ricevuto ciascuno sei iniezioni di salvataggio di anti-VEGF (aflibercept). Nella Coorte 3 (tempo di follow-up mediano di 36 settimane; range 20-40 settimane), il Soggetto 2 ha ricevuto una iniezione di salvataggio di anti-VEGF (aflibercept), e il Soggetto 3 ha ricevuto quattro iniezioni di salvataggio di anti-VEGF (aflibercept). Nel complesso, 10 soggetti su 15 nelle Coorti 2-3 sono rimasti privi di iniezione di salvataggio. Nel complesso, persino con iniezioni di salvataggio in certe coorti, vi è stata una drastica riduzione del carico di iniezione di anti-VEGF.

È stata osservata una riduzione sostanziale del tasso di iniezione annualizzato di anti-VEGF in soggetti nelle Coorti 1-3 (**FIGG. 27A-27B**). In particolare, nessun soggetto nella Coorte 1 ha ricevuto alcuna iniezione di anti-VEGF di salvataggio (riduzione del 100%), e soggetti nelle Coorti 2 e 3

combinate hanno avuto una riduzione dell'87% del tasso annuo medio aritmetico di iniezioni di anti-VEGF (**FIG. 27A**).

Casi di studio

Al basale, il Soggetto 5 nella Coorte 3 (maschio di 82 anni di età con wAMD all'occhio destro) aveva ricevuto 19 precedenti iniezioni di anti-VEGF (9 negli ultimi 12 mesi precedenti la somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept). Il soggetto 5 aveva fluido sottoretinico persistente persino con frequenti iniezioni di anti-VEGF ogni 5 settimane (**FIG. 28A**). L'area bianca al centro delle mappe di spessore nella **FIG. 28A** rispecchia una macula molto spessa.

Come mostrato nella **FIG. 28B**, il Soggetto 5 ha ricevuto un'iniezione di aflibercept di screening 2 settimane antecedentemente all'iniezione pianificata di AAV2.7m8-aflibercept. Il Soggetto 5 ha mostrato una buona risposta all'iniezione di aflibercept di screening, con risoluzione dell'IRF e miglioramento dell'SRF. Dunque, il Soggetto 5 era responsivo a trattamento con anti-VEGF ma richiedeva iniezioni molto frequenti per mantenere il fluido assente. Una settimana dopo l'iniezione di AAV2.7m8-aflibercept, il fluido era migliorato. Se questo soggetto fosse soltanto a iniezioni di aflibercept in bolo, il fluido avrebbe iniziato a tornare entro 4-5 settimane e le immagini OCT sarebbero apparse simili all'immagine OCT al basale, con fluido significativo. Tuttavia, come mostrato nella **FIG. 28B**, a 12 settimane, 16 settimane, 20 settimane, 28 settimane e 36 settimane in seguito all'iniezione di AAV2.7m8-aflibercept, non vi era fluido e la vista era migliorata. Dunque, nel Soggetto 5, il carico di trattamento è stato affrontato dall'iniezione di AAV2.7m8-aflibercept eliminando la necessità di iniezioni, migliorando la vista e controllando l'attività di malattia.

Questi risultati dimostrano che il decorso della malattia nel Soggetto 5 è stato alterato da una singola somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept.

Disamina

I risultati descritti in questo Esempio hanno mostrato che AAV2.7m8-aflibercept continua a essere ben tollerato e ha un profilo di sicurezza favorevole in tutte le coorti (n = 30). Tutti gli eventi avversi oculari correlati ad AAV2.7m8-aflibercept sono stati lievi (78%) o moderati (22%) e l'infiammazione oculare, quando osservata, era responsiva a colliri a base di steroidi.

In aggiunta, i risultati descritti in questo Esempio hanno mostrato che AAV2.7m8-aflibercept ha un'efficacia robusta e sostenuta.

È stata osservata una chiara risposta alla dose, con tutti i soggetti a cui è stato somministrato AAV2.7m8-aflibercept a una dose di 6×10^{11} vg/occhio che sono rimasti privi di iniezioni di anti-VEGF di salvataggio, e 10 dei 15 soggetti a cui è stato somministrato AAV2.7m8-aflibercept a una dose di 2×10^{11} vg/occhio che sono rimasti privi di iniezioni di anti-VEGF di salvataggio. Tutti i soggetti nella Coorte 1 (dose di 6×10^{11} vg/occhio) rimangono privi di iniezioni di salvataggio per oltre 15 mesi dopo una somministrazione di AAV2.7m8-aflibercept.

I risultati descritti in questo Esempio hanno anche mostrato che una singola iniezione IVT di AAV2.7m8-aflibercept ha dato come risultato una sostanziale riduzione del tasso di iniezione di anti-VEGF annualizzato. La BCVA media aritmetica è stata generalmente mantenuta a migliorata e il CST medio aritmetico è generalmente migliorato.

I risultati dalla Coorte 4 hanno mostrato che il regime profilattico di 6 settimane di colliri a base di steroidi è stato efficace nel ridurre al minimo l'infiammazione oculare precoce, coerentemente con i risultati osservati nella Coorte 3.

RIVENDICAZIONI

1. Dose unitaria di particelle di virus adeno-associato ricombinante (rAAV) per l'uso in un metodo per trattare una malattia neovascolare retinica in un individuo, il metodo comprendendo somministrare una dose unitaria di circa 6×10^{11} genomi di vettore (vg) o meno di particelle di rAAV a un occhio dell'individuo mediante somministrazione intravitreale, in cui l'individuo è un essere umano,

e in cui le particelle di rAAV comprendono:

a) un acido nucleico codificante un polipeptide comprendente una sequenza di amminoacidi con almeno circa il 95% di identità con la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 35 e fiancheggiato da ripetizioni terminali invertite (ITR) di AAV2, e

b) una proteina di capsida di AAV2 comprendente una sequenza di amminoacidi LGETTRP (ID di SEQ n. 14) inserita tra le posizioni 587 e 588 della proteina di capsida, in cui la numerazione dei residui di amminoacidi corrisponde a una proteina di capsida VP1 di AAV2 comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 13;

in cui il metodo comprende inoltre somministrare all'individuo un trattamento con steroide.

2. La dose unitaria di particelle di rAAV per l'uso secondo la rivendicazione 1, in cui fluido retinico nell'occhio dell'individuo con una malattia neovascolare retinica è ridotto, facoltativamente in cui:

(a) l'individuo ha ricevuto almeno un trattamento con un agente anti-VEGF nelle circa 12 settimane antecedenti una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV, e/o la quantità o presenza di fluido retinico nell'occhio dell'individuo è refrattaria a un antecedente trattamento con un agente anti-VEGF, facoltativamente in cui l'agente anti-VEGF è aflibercept; e/o

(b) il fluido retinico è fluido subretinico (SRF) o fluido intraretinico (IRF).

3. La dose unitaria di particelle di rAAV per l'uso secondo la rivendicazione 1, in cui il metodo comprende inoltre somministrare un agente anti-VEGF all'occhio dell'individuo antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV;

facoltativamente in cui:

(a) il metodo comprende somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio dell'individuo circa 1 settimana o circa 7 giorni dopo una somministrazione dell'agente anti-VEGF;

(b) il metodo comprende somministrare l'agente anti-VEGF all'occhio dell'individuo il Giorno 1, e somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio dell'individuo il Giorno 8; e/o

(c) l'agente anti-VEGF comprende aflibercept, facoltativamente in cui l'aflibercept è somministrato a una dose di circa 2 mg mediante iniezione intravitreale.

4. La dose unitaria di particelle di rAAV per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-3,

in cui:

(a) la dose unitaria di particelle di rAAV è tra circa 6×10^{10} e circa 6×10^{11} genomi di vettore per occhio (vg/occhio); oppure

(b) la dose unitaria di particelle di rAAV è tra circa 6×10^{10} e circa 2×10^{11} vg/occhio, o tra circa 2×10^{11} e circa 6×10^{11} vg/occhio,

facoltativamente in cui la dose unitaria di particelle di rAAV è circa 2×10^{11} o circa 6×10^{11} vg/occhio.

5. La dose unitaria di particelle di rAAV per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-4,

in cui:

(a) l'individuo ha uno o più sintomi di una malattia neovascolare retinica nell'occhio controlaterale; e/o

(b) il metodo comprende inoltre somministrare una dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio controlaterale dell'individuo mediante somministrazione intravitreale, facoltativamente

in cui:

i) il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio controlaterale è fino a circa 2 settimane dopo avere somministrato la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio, facoltativamente in cui: (1) il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio controlaterale è lo stesso giorno del somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio, o tra circa 1 giorno e circa 14 giorni dopo avere somministrato la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio, e/o (2) la dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio controlaterale comprende gli stessi genomi di vettore per occhio (vg/occhio) o meno rispetto alla dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio; oppure

ii) il somministrare la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio controlaterale è almeno circa 2 settimane dopo avere somministrato la dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio, facoltativamente in cui la dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio controlaterale comprende più genomi di vettore per occhio (vg/occhio) rispetto alla dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio.

6. La dose unitaria di particelle di rAAV per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-5, in cui:

(a) l'acido nucleico comprende la sequenza di acido nucleico di ID di SEQ n. 40 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa;

(b) il polipeptide comprende la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 35 o ID di SEQ n. 41; oppure

(c) il polipeptide è aflibercept.

7. La dose unitaria di particelle di rAAV per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-6, in cui l'acido nucleico comprende inoltre una prima regione potenziatrice, una regione promotrice, una regione 5'UTR, una seconda regione potenziatrice, e un sito di poliadenilazione, facoltativamente in cui:

la prima regione potenziatrice comprende una sequenza CMV comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 22 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa,

la regione promotrice comprende una sequenza CMV comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 23 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa,

la regione 5'UTR comprende, in un ordine da 5' a 3', una sequenza TPL comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 24 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa, e una sequenza eMLP comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 25 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa,

la seconda regione potenziatrice comprende una sequenza EES piena comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 26 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa, e

il sito di poliadenilazione comprende un sito di poliadenilazione di HGH comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 27 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa.

8. La dose unitaria di particelle di rAAV per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-5,

in cui l'acido nucleico comprende, nell'ordine da 5' a 3':

(a) una prima regione potenziatrice;

(b) una regione promotrice;

(c) una regione 5'UTR;

(d) un acido nucleico codificante un polipeptide comprendente una sequenza di amminoacidi con almeno circa il 95% di identità con la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 35;

(e) una seconda regione potenziatrice; e

(f) un sito di poliadenilazione;

e fiancheggiato da ripetizioni terminali invertite (ITR) di AAV2;

facoltativamente in cui:

la prima regione potenziatrice comprende una sequenza CMV comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 22 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa,

la regione promotrice comprende una sequenza CMV comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 23 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa,

l'acido nucleico che codifica un polipeptide comprende la sequenza di acido nucleico di ID di SEQ n. 40 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa,

il polipeptide comprende la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 35 o ID di SEQ n. 41, o una sequenza avente almeno il 95% di identità rispetto a essa, o il polipeptide è aflibercept,

la regione 5'UTR comprende, in un ordine da 5' a 3', una sequenza TPL comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 24 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa, e una sequenza eMLP comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 25 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa,

la seconda regione potenziatrice comprende una sequenza EES piena comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 26 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa, e/o

il sito di poliadenilazione comprende un sito di poliadenilazione di HGH comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 27 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa.

9. La dose unitaria di particelle di rAAV per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-8,

in cui:

(a) l'acido nucleico comprende la sequenza di ID di SEQ n. 39 o una sequenza avente almeno l'85% di identità rispetto a essa;

(b) la proteina di capsida di AAV2 comprende la sequenza di amminoacidi LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1) inserita tra le posizioni 587 e 588 della proteina di capsida, in cui la numerazione dei residui di amminoacidi corrisponde a una proteina di capsida VP1 di AAV2 comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 13;

(c) la proteina di capsida di AAV2 comprende la sequenza di amminoacidi LGETTRP (ID di SEQ n. 14) inserita tra le posizioni 587 e 588 della VP1 di AAV2 comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 13;

(d) la proteina di capsida di AAV2 comprende la sequenza di amminoacidi LALGETTRPA (ID di SEQ n. 1) inserita tra le posizioni 587 e 588 della VP1 di AAV2 comprendente la sequenza di ID di SEQ n. 13; e/o

(e) le particelle di rAAV comprendono una proteina di capsida VP1 di AAV2 comprendente un'ansa GH che comprende la sequenza di amminoacidi di ID di SEQ n. 38 o una sequenza di amminoacidi avente almeno il 90% di identità di sequenza con ID di SEQ n. 38.

10. La dose unitaria di particelle di rAAV per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-9,

in cui:

(a) la dose unitaria di particelle di rAAV è in una formulazione farmaceutica, facoltativamente in cui la formulazione farmaceutica comprende le particelle di rAAV, cloruro di sodio, fosfato di sodio e un tensioattivo, inoltre facoltativamente in cui la formulazione farmaceutica comprende da circa 150 a circa 200 mM di cloruro di sodio, da circa 1 a circa 10 mM di fosfato di sodio monobasico, da circa 1 a circa 10 mM di fosfato di sodio dibasico, da circa lo 0,0005% (p/v) a circa lo 0,005% (p/v) di polossamero 188, e da circa 6×10^{13} a circa 6×10^{10} genomi di vettore (vg) per ml (vg/ml) delle particelle di rAAV, in cui la formulazione farmaceutica ha un pH da circa 7,0 a circa 7,5, e facoltativamente in cui:

i) la formulazione farmaceutica comprende circa 180 mM di cloruro di sodio, circa 5 mM di fosfato di sodio monobasico, circa 5 mM di fosfato di sodio dibasico, circa 6×10^{12} vg/ml delle particelle di rAAV, e circa lo 0,001% (p/v) di polossamero 188, in cui la formulazione farmaceutica ha un pH di circa 7,3, o

ii) la formulazione farmaceutica comprende circa 180 mM di cloruro di sodio, circa 5 mM di fosfato di sodio monobasico, circa 5 mM di fosfato di sodio dibasico, circa 2×10^{12} vg/ml delle particelle di rAAV, e circa lo 0,001% (p/v) di polossamero 188, in cui la formulazione farmaceutica ha un pH di circa 7,3, o

iii) la formulazione farmaceutica comprende circa 180 mM di cloruro di sodio, circa 5 mM di fosfato di sodio monobasico, circa 5 mM di fosfato di sodio dibasico, circa 6×10^{11} vg/ml delle particelle di rAAV, e circa lo 0,001% (p/v) di polossamero 188, in cui la formulazione farmaceutica ha un pH di circa 7,3;

(b) la dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio e/o all'occhio controlaterale è in un volume da circa 25 µl a circa 250 µl, facoltativamente in cui la dose unitaria di particelle di rAAV somministrata all'occhio e/o all'occhio controlaterale comprende un volume di circa 100 µl o circa 30 µl; e/o

(c) l'individuo:

i) ha ricevuto un antecedente trattamento per la malattia neovascolare retinica con un agente anti-VEGF, facoltativamente in cui l'individuo ha ricevuto 1 o 2 iniezioni di un agente anti-VEGF nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale antecedentemente a una somministrazione delle particelle di rAAV nell'occhio e/o nell'occhio controlaterale, o

ii) non ha ricevuto un antecedente trattamento per la malattia neovascolare retinica con un agente anti-VEGF,

facoltativamente in cui l'agente anti-VEGF è aflibercept.

11. La dose unitaria di particelle di rAAV per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-10, in cui:

(a) il trattamento con steroide comprende un trattamento con steroide oftalmico, facoltativamente in cui il trattamento con steroide oftalmico comprende un trattamento con steroide topico, un trattamento con steroide perioculare, un trattamento con steroide intravitreale, e/o un trattamento con steroide sovracoroideale;

(b) il trattamento con steroide è un trattamento con corticosteroide;

- (c) il trattamento con steroide è un trattamento con steroide sistemico;
- (d) il trattamento con steroide è un trattamento con steroide orale;
- (e) il trattamento con steroide è un trattamento con prednisone; e/o
- (f) il trattamento con steroide è un trattamento con steroide topico; facoltativamente in cui:

- (i) il trattamento con steroide topico comprende un trattamento con difluprednato, e inoltre facoltativamente in cui il trattamento con difluprednato comprende difluprednato allo 0,05% a una dose da circa 1 µg a circa 3 µg, o a una dose di circa 2,5 µg, e/o

- (ii) il trattamento con steroide è somministrato prima, durante e/o dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV all'occhio e/o all'occhio controlaterale.

12. La dose unitaria di particelle di rAAV per l'uso secondo la rivendicazione 11, in cui il trattamento con steroide è un trattamento con steroide topico, e il trattamento con steroide topico è un trattamento con steroide giornaliero per fino a circa 4 settimane, fino a circa 6 settimane, o fino a circa 8 settimane da una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV; facoltativamente in cui:

- (a) il trattamento con steroide topico comprende circa quattro somministrazioni di steroide topico al giorno circa alla settimana 1, circa tre somministrazioni di steroide topico al giorno circa alla settimana 2, circa due

somministrazioni di steroide topico al giorno circa alla settimana 3, e circa una somministrazione al giorno di steroide topico circa alla settimana 4; la tempistica iniziando con e seguente una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV;

(b) il trattamento con steroide topico comprende circa quattro somministrazioni di steroide topico al giorno per circa 3 settimane dopo una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV, seguite da circa 3 somministrazioni di steroide topico al giorno per circa 1 settimana, seguite da circa 2 somministrazioni di steroide topico al giorno per circa 1 settimana, e seguite da circa 1 somministrazione di steroide topico al giorno per circa 1 settimana; oppure

(c) il trattamento con steroide topico comprende circa quattro somministrazioni di steroide topico al giorno per circa quattro settimane, seguite da circa tre somministrazioni di steroide topico al giorno per circa una settimana, seguite da circa due somministrazioni di steroide topico al giorno per circa una settimana, e seguite da circa una somministrazione di steroide topico al giorno per circa una settimana; la tempistica iniziando circa una settimana antecedentemente a una somministrazione della dose unitaria di particelle di rAAV.

13. La dose unitaria di particelle di rAAV per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 3-10, in cui il trattamento con steroide è un trattamento con steroide topico,

facoltativamente in cui il trattamento con steroide topico comprende circa quattro somministrazioni di steroide topico al giorno per circa quattro

settimane, seguite da circa tre somministrazioni di steroide topico al giorno per circa una settimana, seguite da circa due somministrazioni di steroide topico al giorno per circa una settimana, e seguite da circa una somministrazione di steroide topico al giorno per circa una settimana, la tempistica iniziando con e seguente una somministrazione dell'agente anti-VEGF, e

facoltativamente in cui il trattamento con steroide topico comprende un trattamento con difluprednato, inoltre facoltativamente in cui il trattamento con difluprednato comprende difluprednato allo 0,05% a una dose da circa 1 µg a circa 3 µg, o a una dose di circa 2,5 µg.

14. La dose unitaria di particelle di rAAV per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-13, in cui la malattia neovascolare retinica è degenerazione maculare legata all'età (DMLE) umida, neovascolarizzazione retinica, neovascolarizzazione coroideale, retinopatia diabetica, retinopatia diabetica proliferativa, occlusione della vena retinica, occlusione della vena retinica centrale, occlusione della vena retinica di branca, edema maculare diabetico, retinopatia ischemica, edema retinico diabetico, o qualsiasi combinazione di essi.

15. La dose unitaria di particelle di rAAV per l'uso secondo la rivendicazione 14, in cui la malattia neovascolare retinica è:

- (a) degenerazione maculare legata all'età (DMLE) umida; oppure
- (b) edema maculare diabetico (EMD).

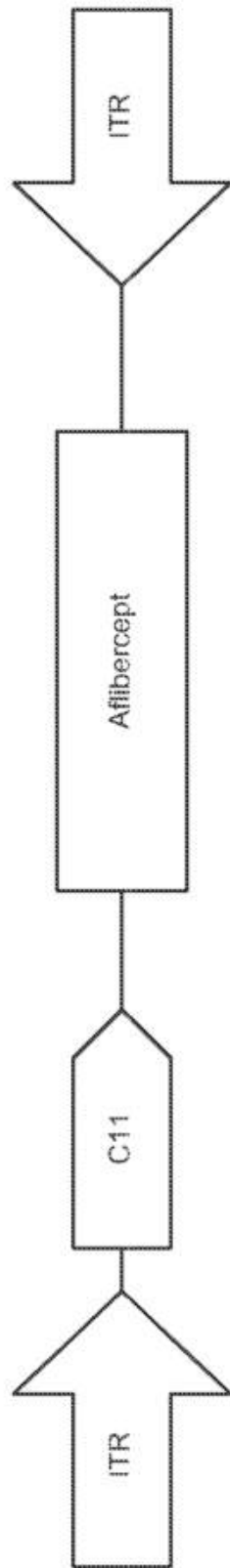


FIG. 1A

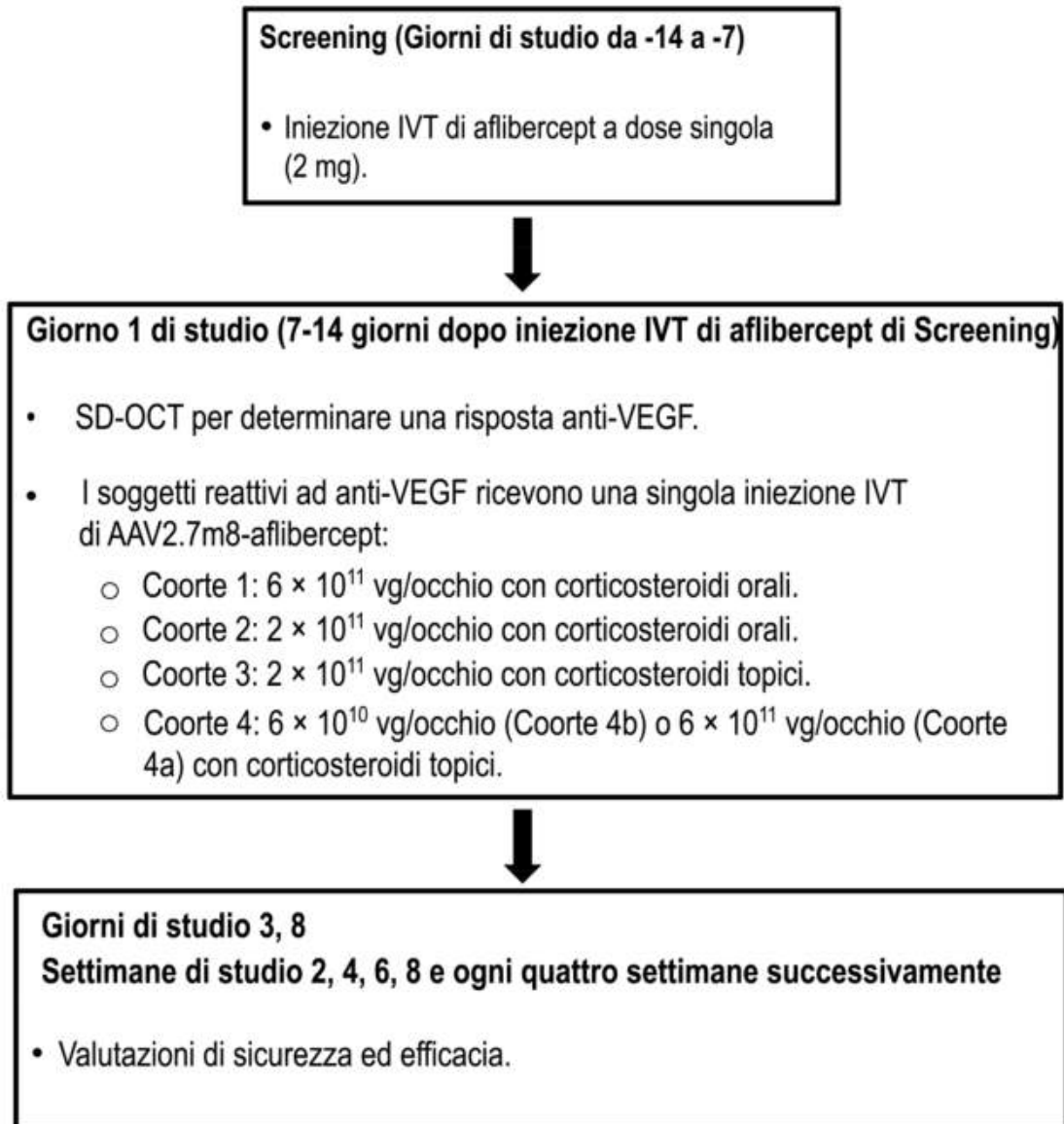


FIG. 1B

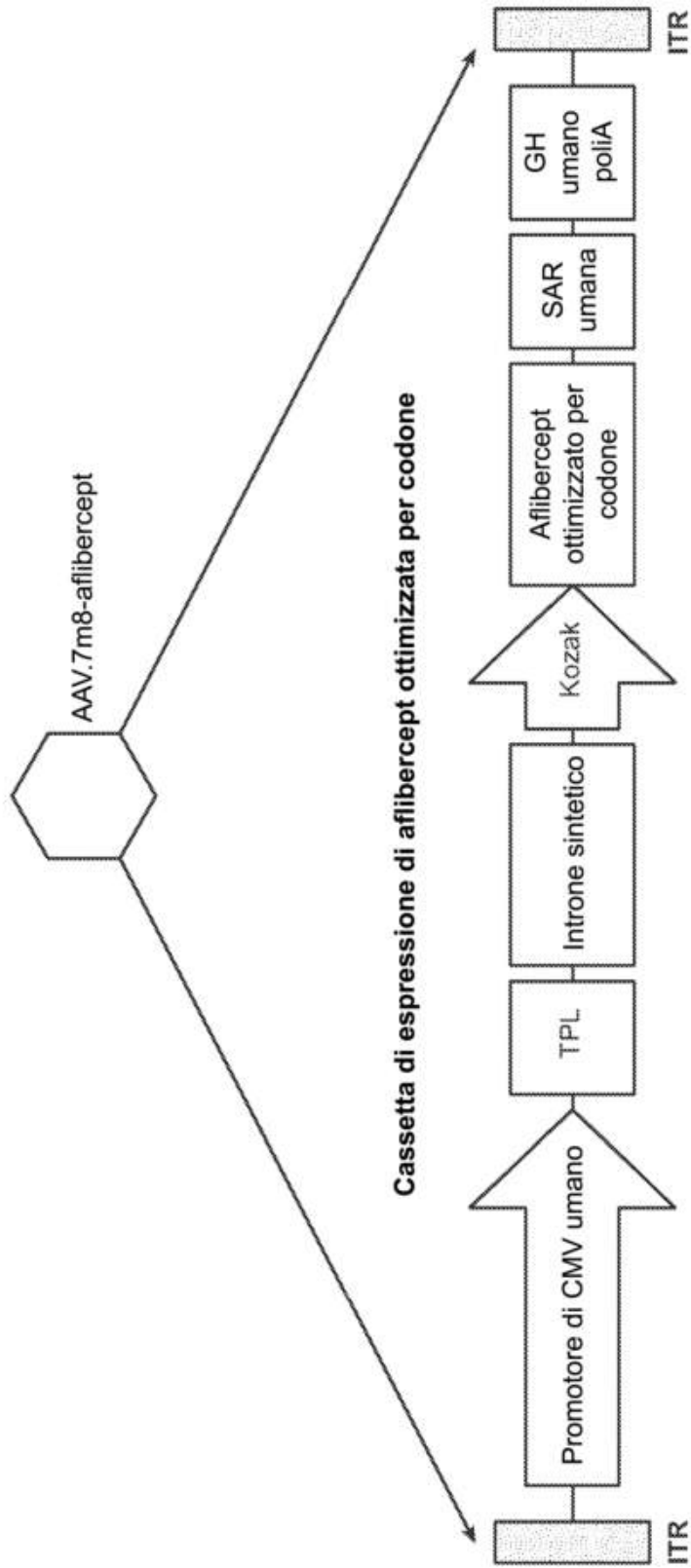


FIG. 1C

Esperienza di trattamento antecedente di nAMD del Soggetto 1

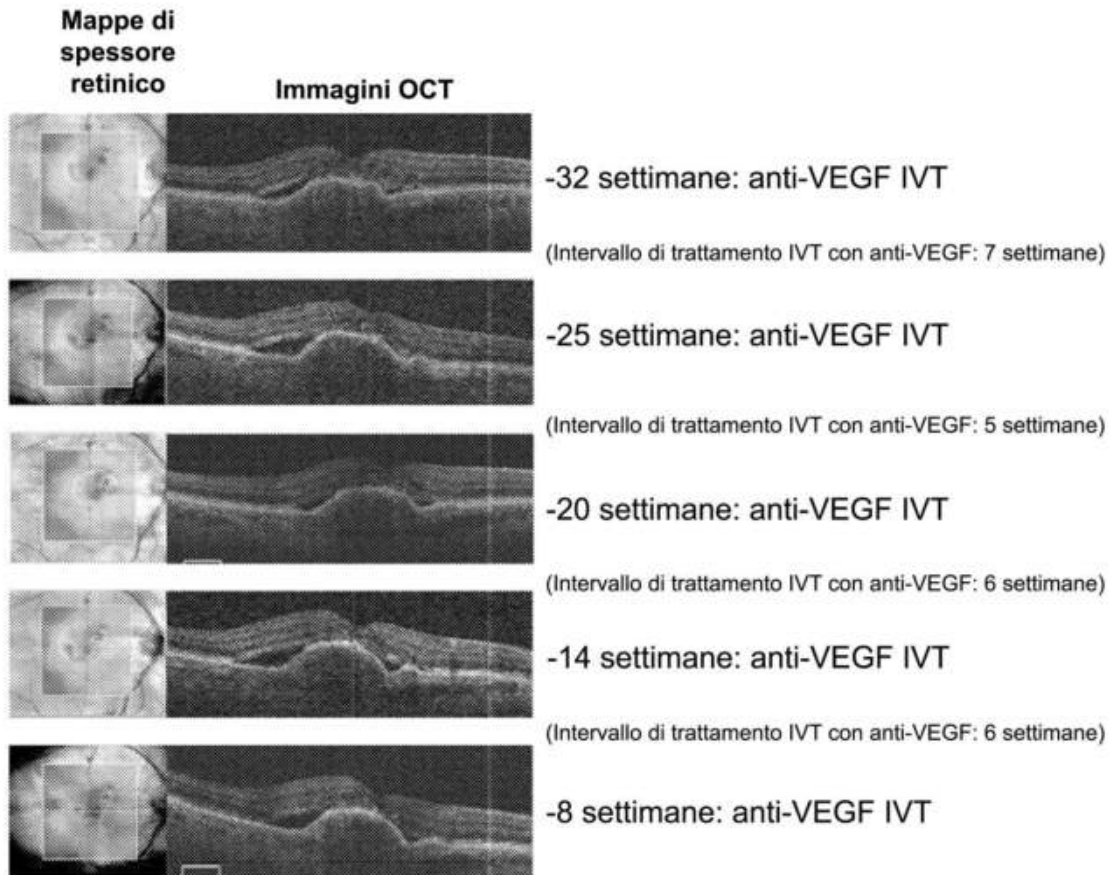
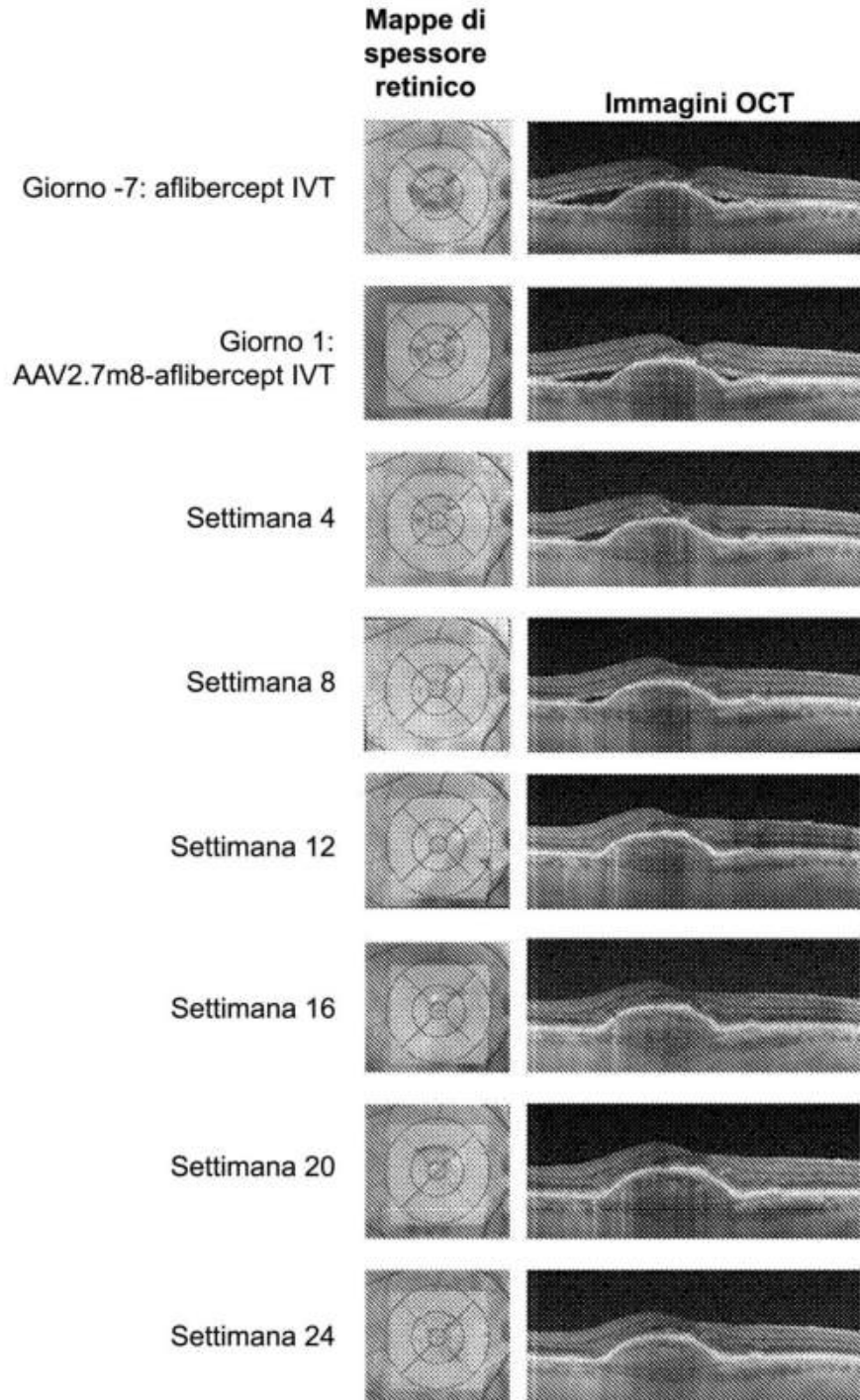
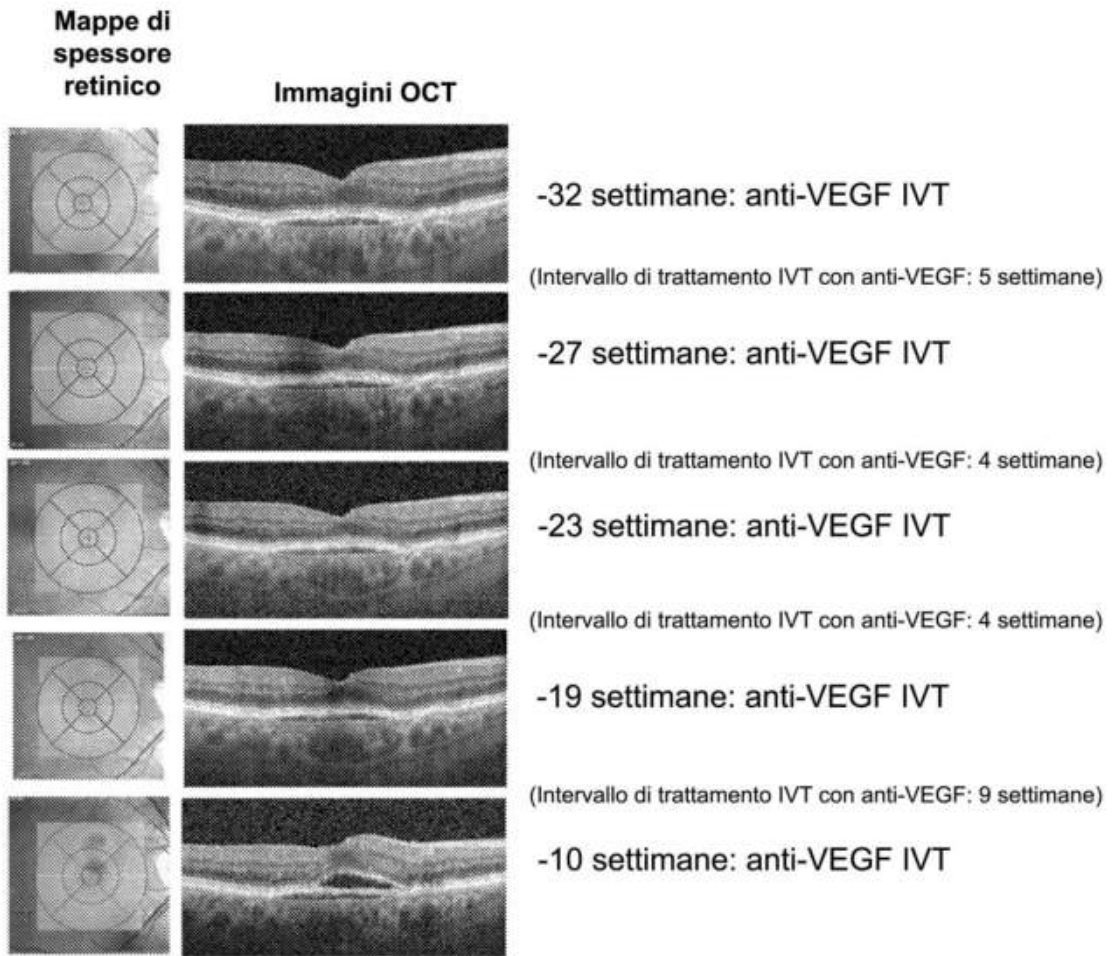
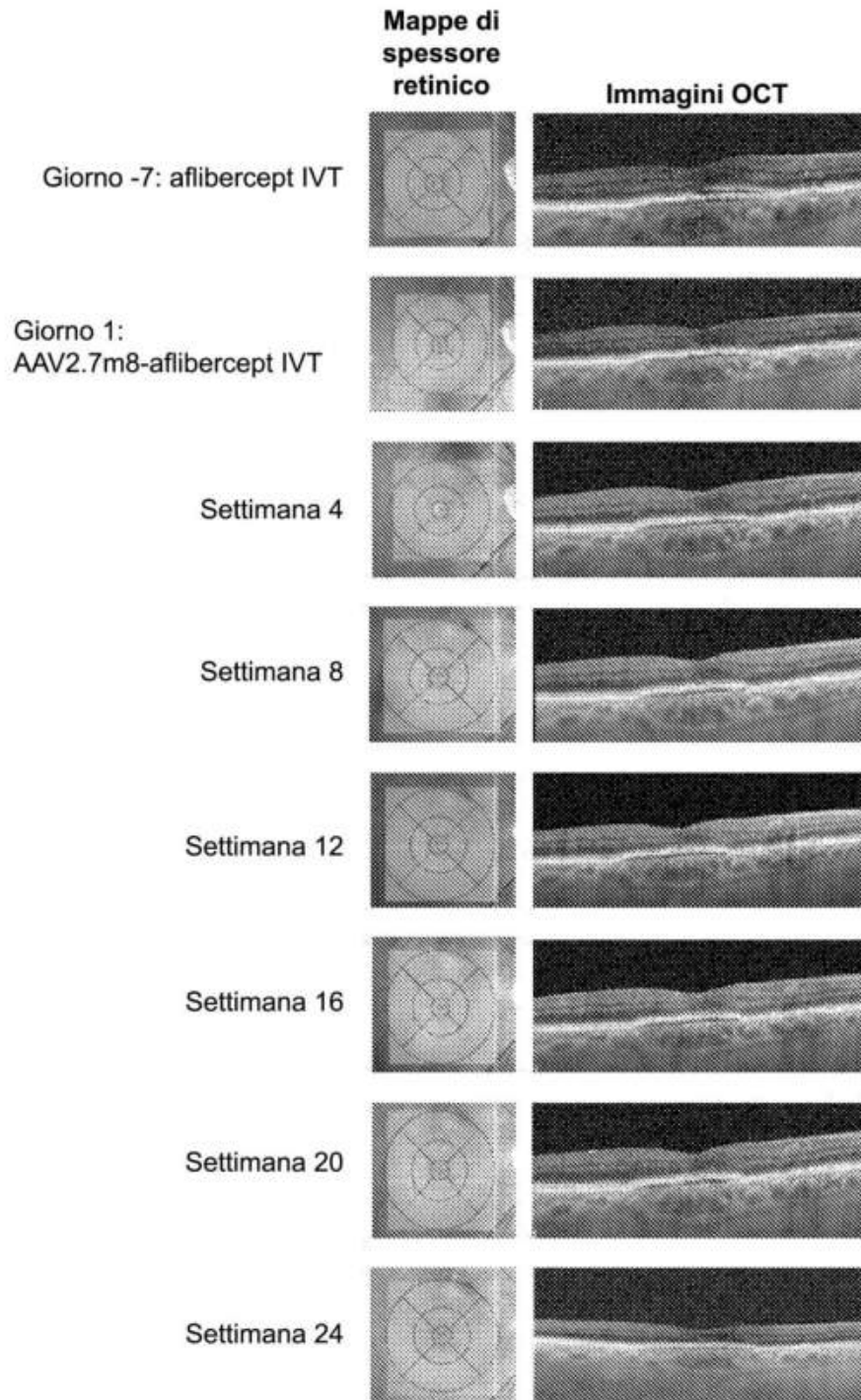


FIG. 2A

Immagini OCT del Soggetto 1 per visita**FIG. 2B**

Esperienza di trattamento precedente di nAMD del Soggetto 2**FIG. 2C**

Immagini OCT del Soggetto 2 per visita**FIG. 2D**

Esperienza di trattamento antecedente di nAMD del Soggetto 3

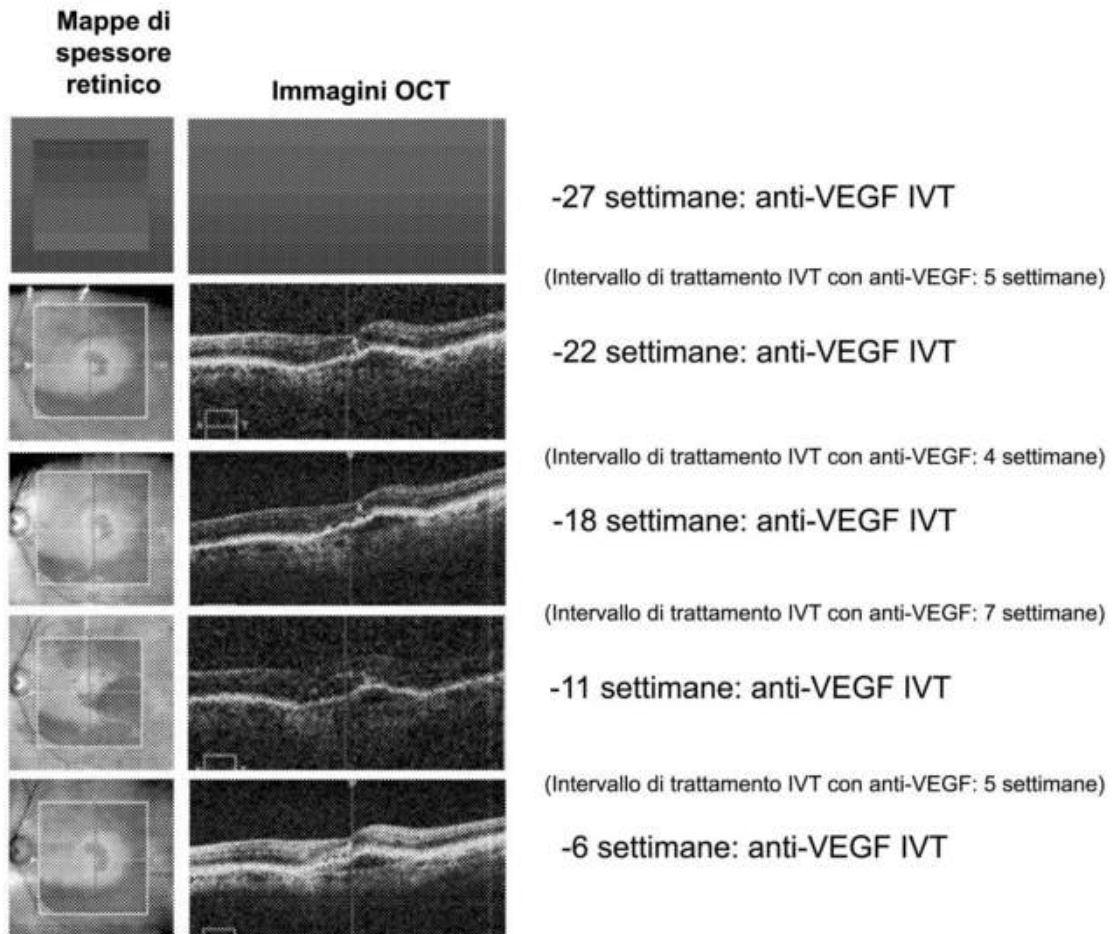
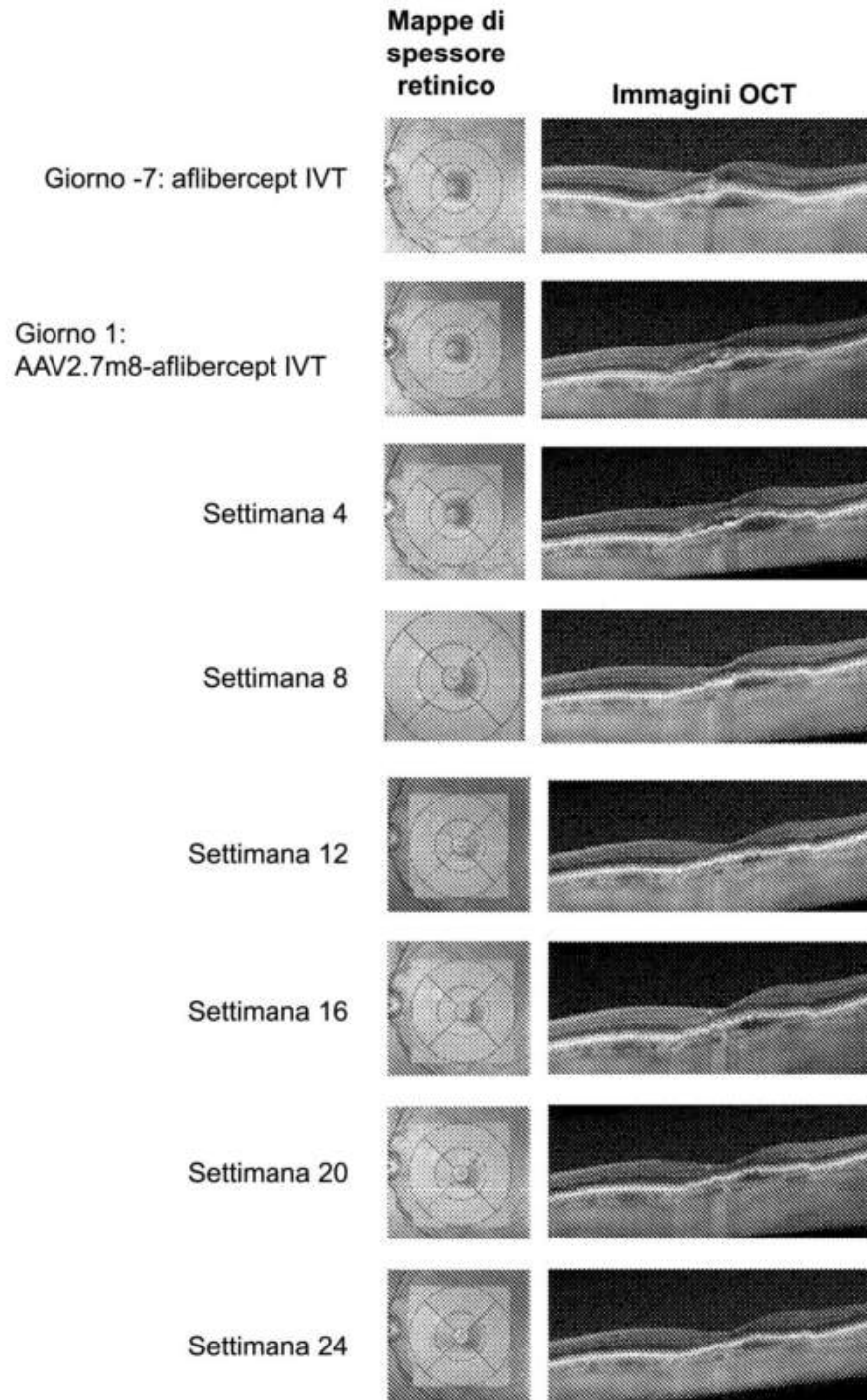
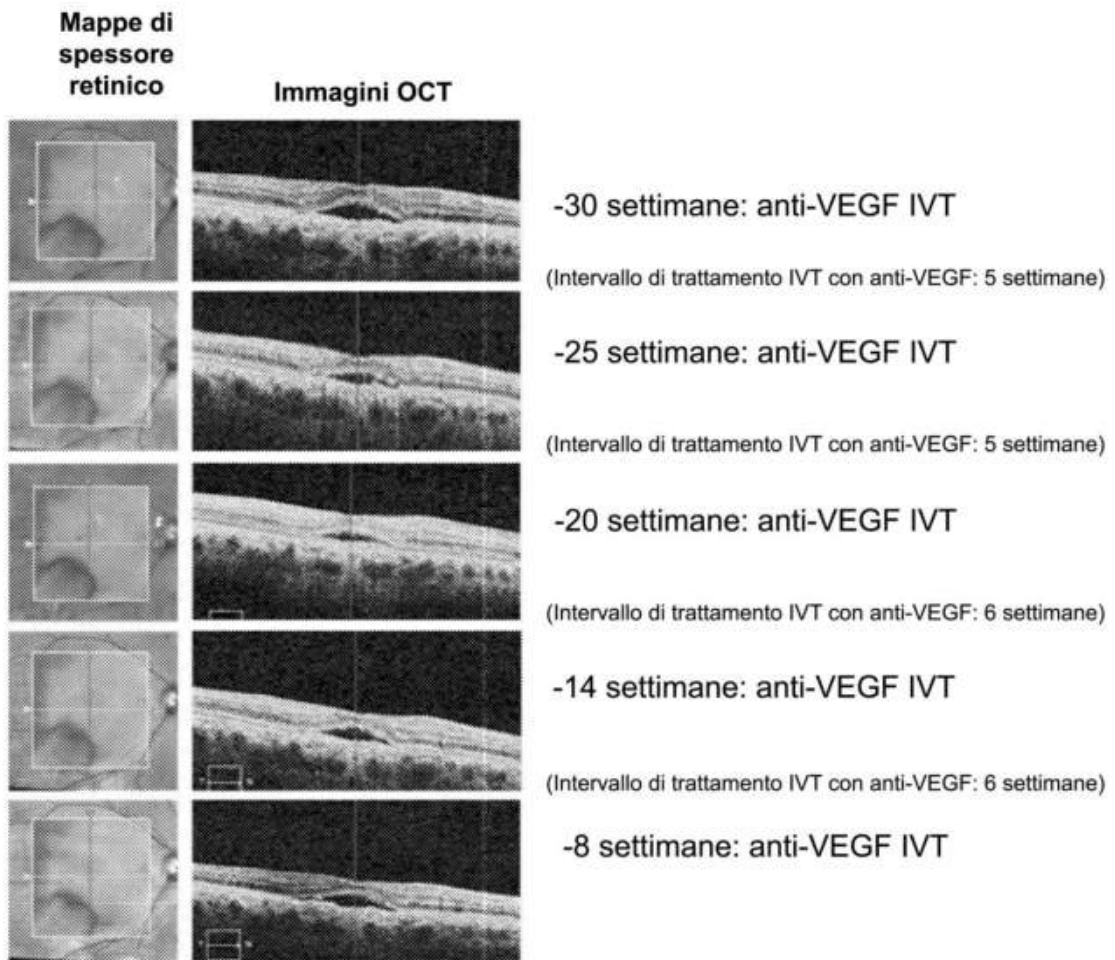
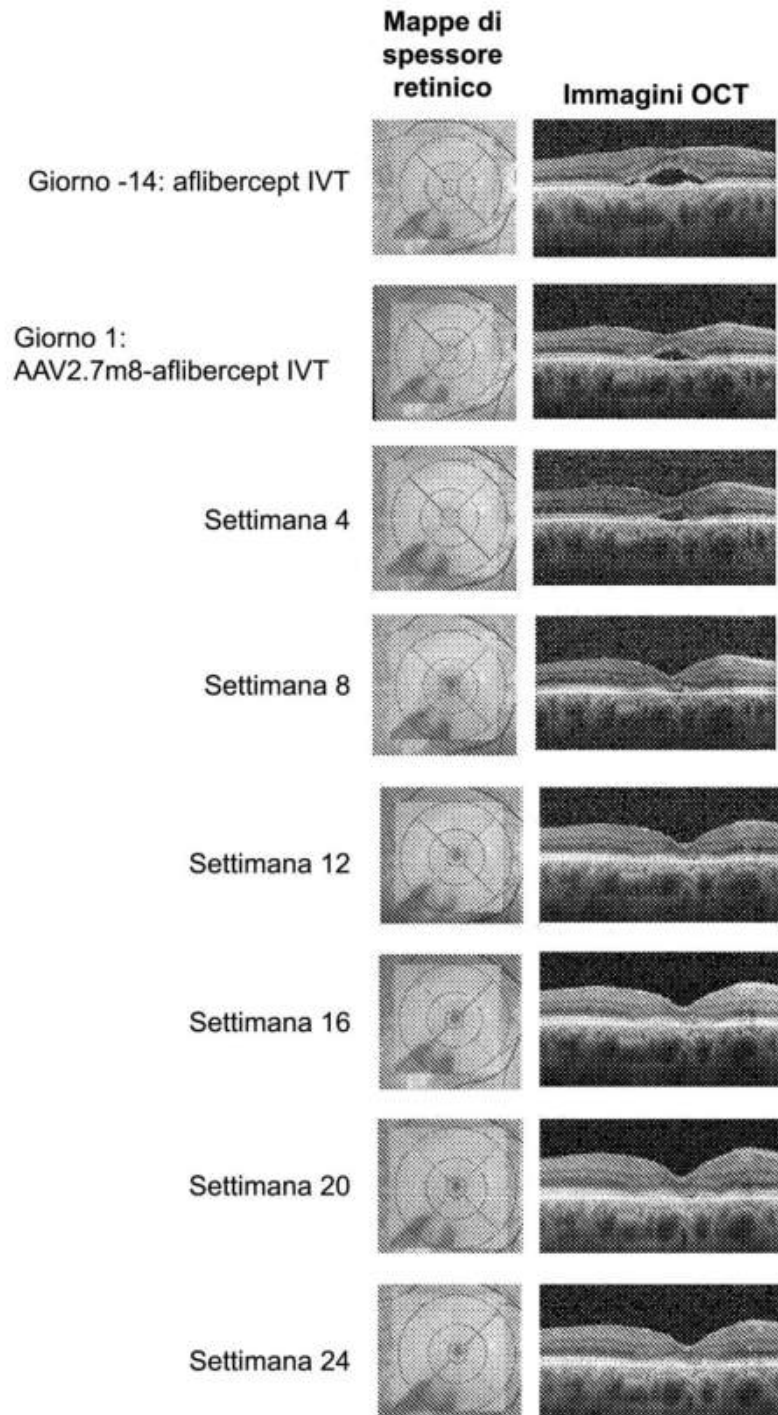


FIG. 2E

Immagini OCT del Soggetto 3 per visita**FIG. 2F**

Esperienza di trattamento antecedente di nAMD del Soggetto 4**FIG. 2G**

Immagini OCT del Soggetto 4 per visita**FIG. 2H**

Esperienza di trattamento antecedente di nAMD del Soggetto 5

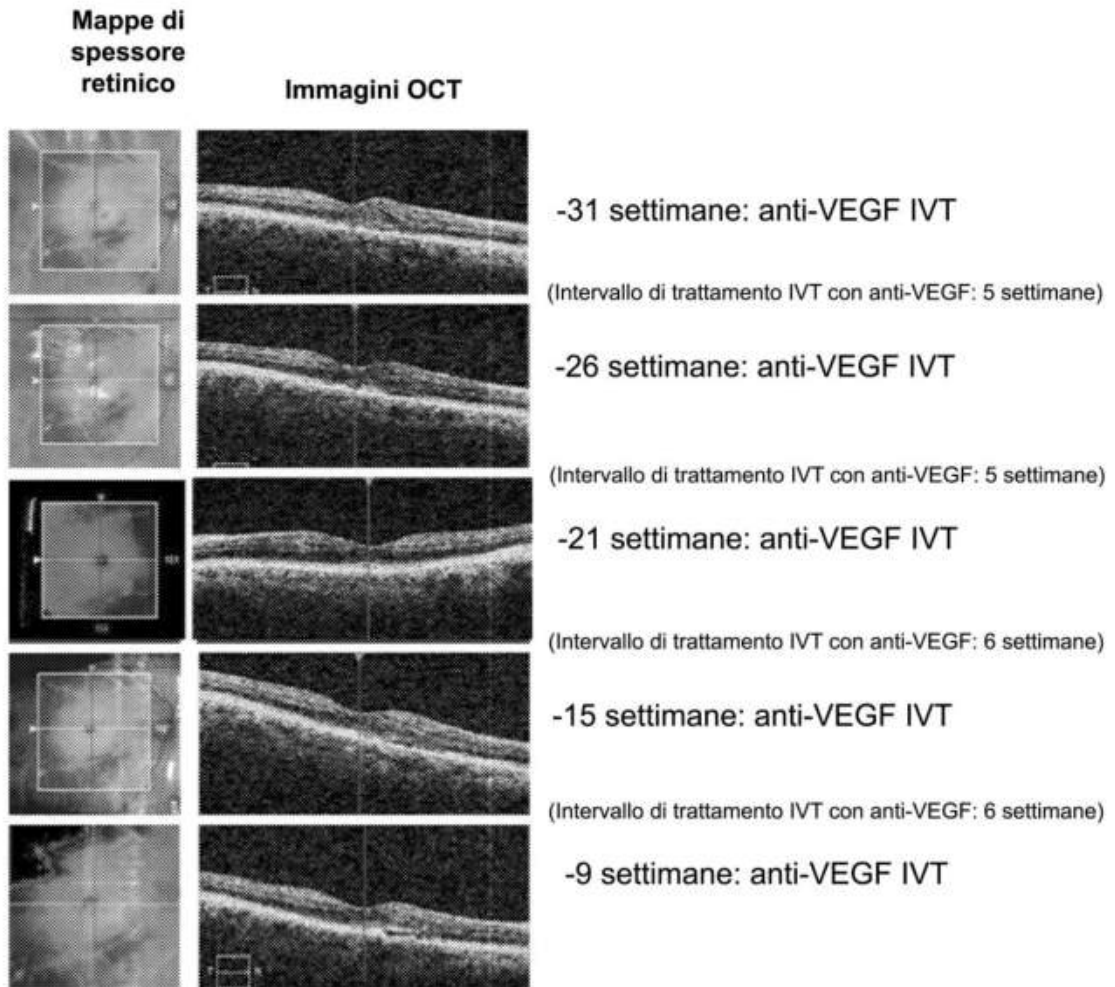
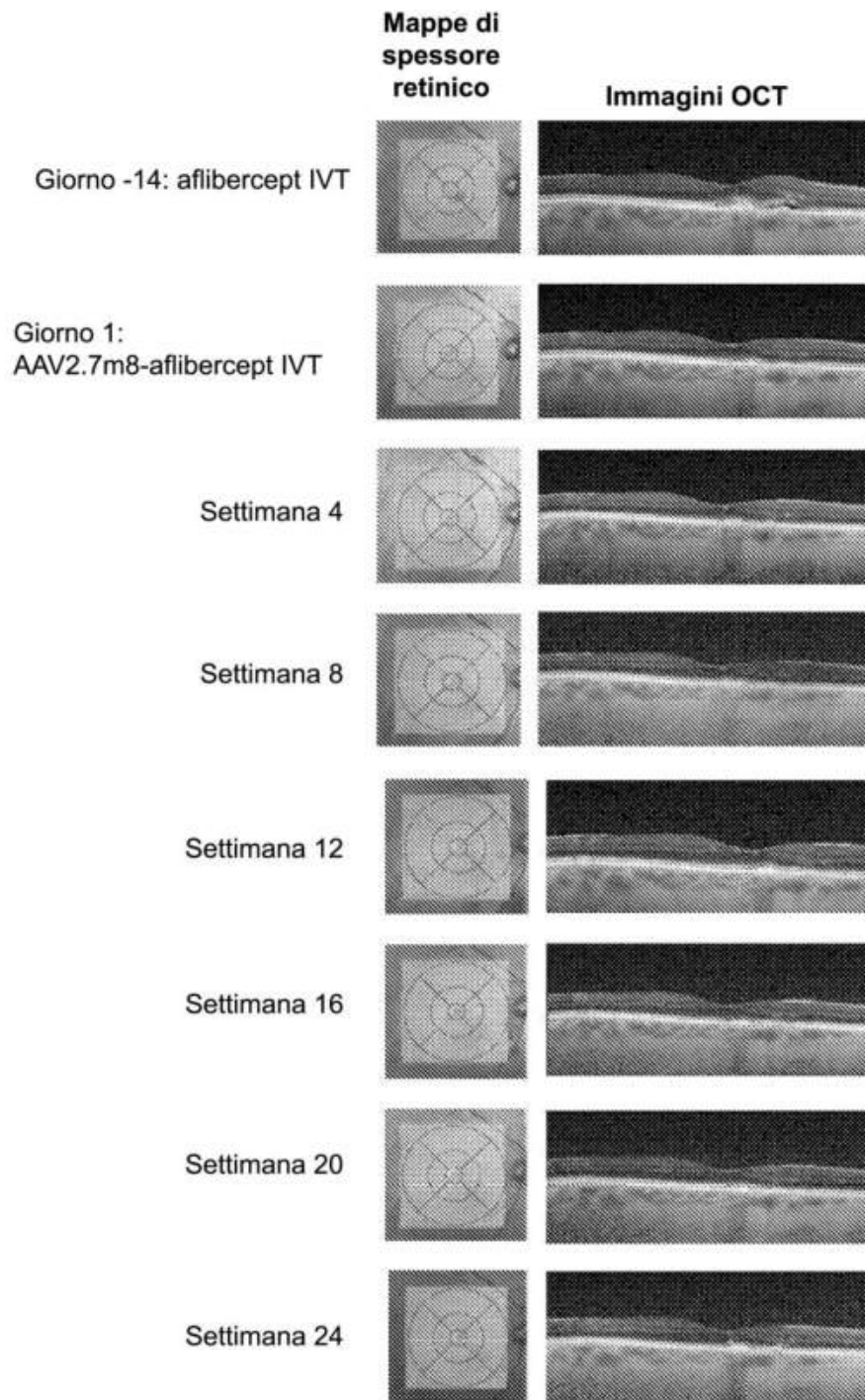


FIG. 2I

Immagini OCT del Soggetto 5 per visita**FIG. 2J**

Esperienza di trattamento antecedente di nAMD del Soggetto 6

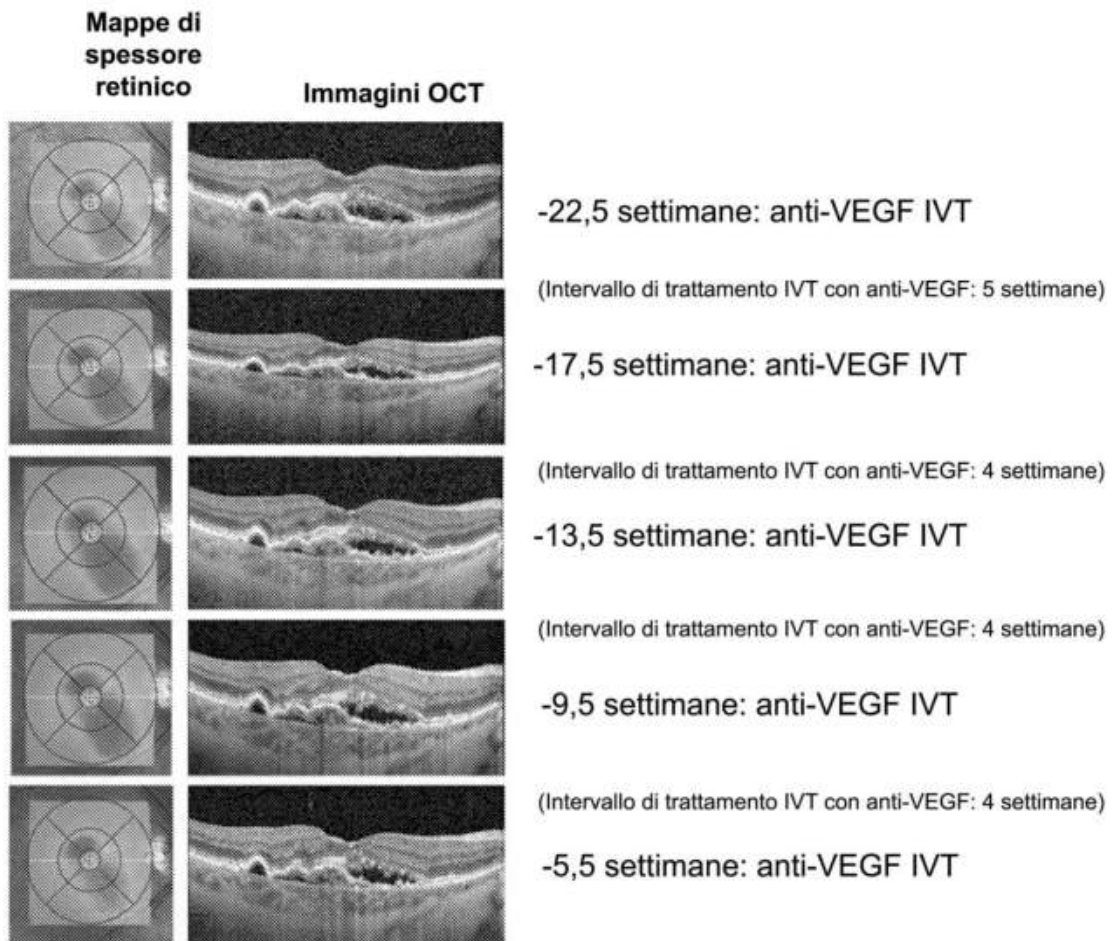
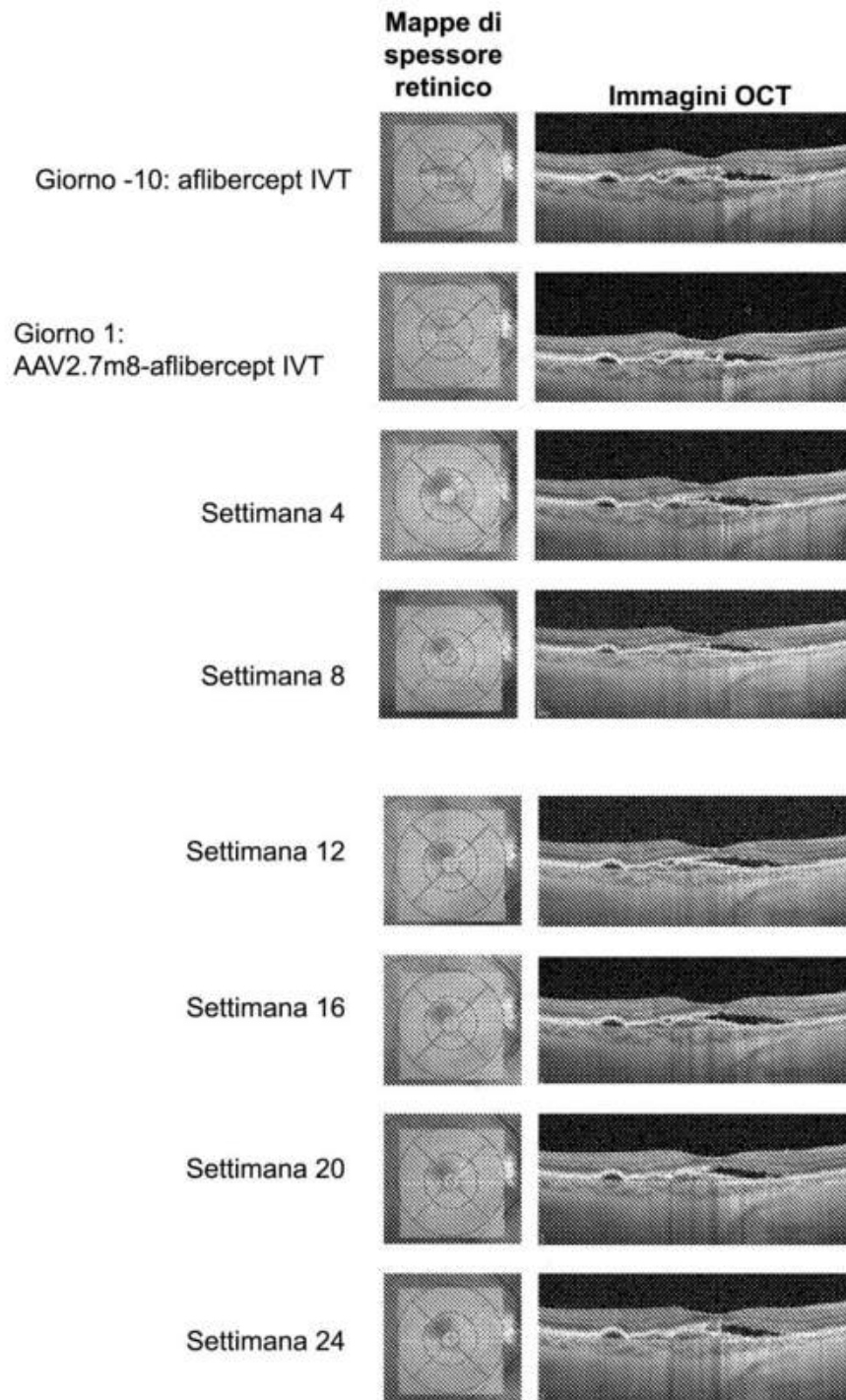


FIG. 2K

Immagini OCT del Soggetto 6 per visita**FIG. 2L**

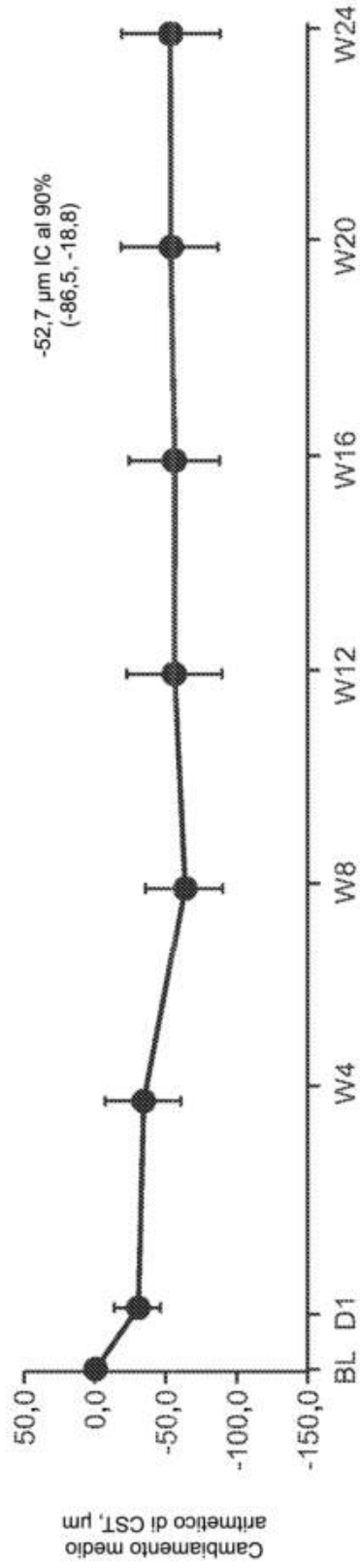


FIG. 3

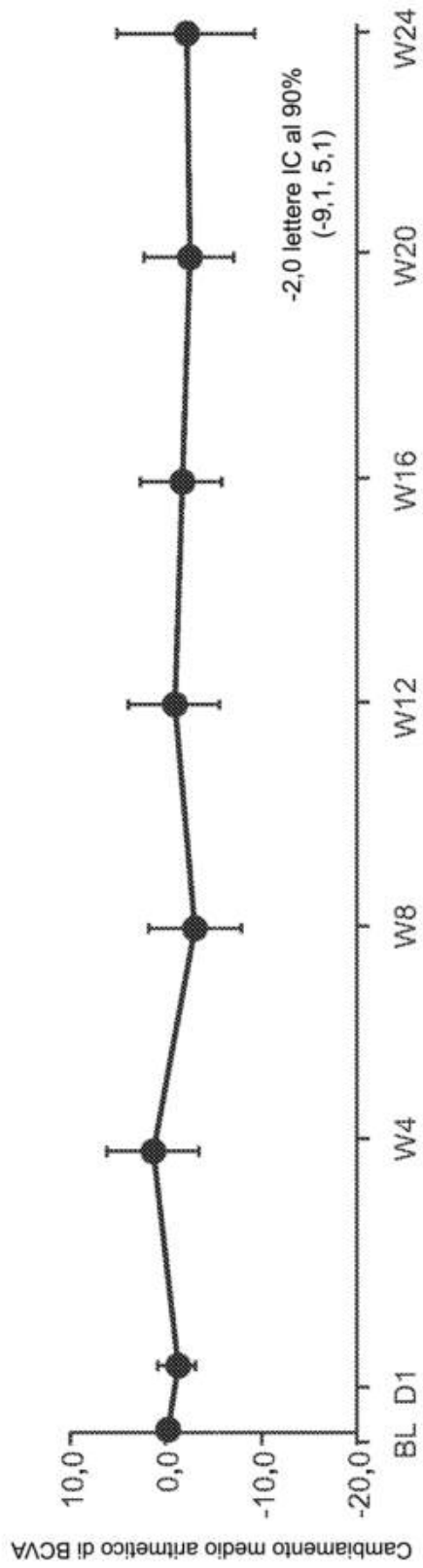


FIG. 4

ATGGTCAGCTACTGGGACACCGGGTCTCTGTGCGGCTGCTCAGCTGTCTGC
 TTCTCACAGGATCTAGTTCGGGAGTGATACCGGTAGACCTTTCGTAGAGATGTA
 CAGTGAAATCCCGAATTAACACATGACTGTTACTTTAAAAGTTTCCACTTGAC
 CTGCCGGTTACGTCACCTAACATCAGTGTACTTTAAAGTTTCCACTTGAC
 ACTTTGATCCCTGATGGAAAACGCATAATCTGGACAGTAGAAAAGGGCTTCATC
 ATATCAAATGCAACGTACAAAAGAAATAGGGCTTCTGACCTGTGAGCAACAGTC
 AATGGCATTTTGATAAGACAACCTATCTCACACATCGACAACCAATACAATC
 ATAGATGTGGTCTGAGTCCGTCTCATGGAAATGAACTATCTGTTGGAGAAAAGC
 TTGTCCTTAAATTGTACAGCAAGAACTGAACTAAATGTGGGATTGACTTCAACTG
 GGAAATACCTTCTTCGAAGCATCAGCATAAGAAACTTGTAAACCGAGACCTAAA
 AACCCAGTCTGGAGTGAGATGAAGAATTTTGTGACACCTTAACATAAGATGG
 TGTAACCCGGAGTGACCAAGGATTTGTACACCTGTGCAGCATCCAGTGGGCTGAT
 GACCAAGAAGAACAGCACATTTGTCAAGGTCCATGAAAAGGACAAAACCTCACA
 CATGCCAACCGTGCCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGACCCTCAGTCTTCCCTCTT
 CCCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCTGAGGTACACATG
 CGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGT
 GGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACA
 ACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCACCGTCTGCAACAGGACTGGCTGA
 ATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGGTCTCCACAACAAGCCCTCCAGCCCCCATCG
 AGAAAACCATCTCCAAAAGCCAAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAACAGGTGTACACC
 CTGCCCCCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACAGGTCAAGCTGACCTGACCTGCCCTG
 GTCAAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG
 CCGGAGAACACTACAAAGACCACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCCTC
 TTCCCTTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAAGGTGGCAGCAGGGGAACGTC
 TTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAAGAGC
 CTCTCCCTGTCTCCGGGTAATGA

FIG. 5

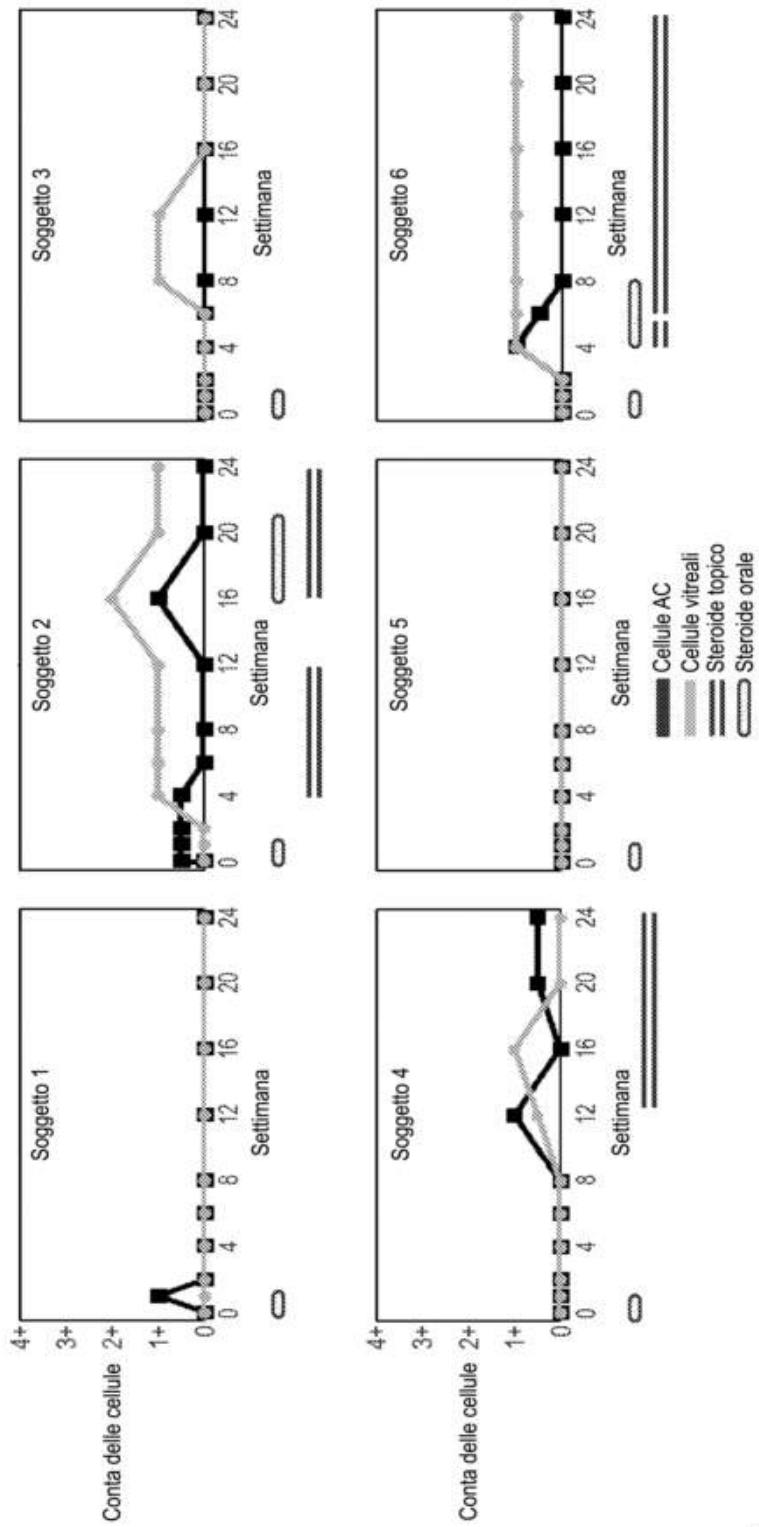


FIG. 6


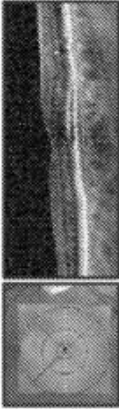
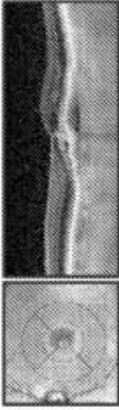



	Soggetto 1: 44 settimane Post-AAV2.7m8-affibercept	Soggetto 2: 40 settimane Post-AAV2.7m8-affibercept	Soggetto 3: 36 settimane Post-AAV2.7m8-affibercept
OCT al basale			
OCT più recente			
Cambiamento di BCVA dal basale, lettere ETRS	+3	-9	-6
IVT negli 8 mesi antecedenti questo studio, n.	5	6	6
IVT di salvataggio durante questo studio, n.	0	0	0

FIG. 7A





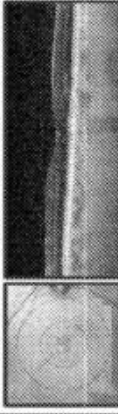

	Soggetto 4: 32 settimane Post-AAV2.7m8-afibercept	Soggetto 5: 28 settimane Post-AAV2.7m8-afibercept	Soggetto 6: 28 settimane Post-AAV2.7m8-afibercept
OCT al basale			
OCT più recente			
Cambiamento di BCVA dal basale, lettere ETDRS	+5	+1	-3
IVT negli 8 mesi antecedenti questo studio, n.	6	6	8
IVT di salvataggio in questo studio, n.	0	0	0

FIG. 7B

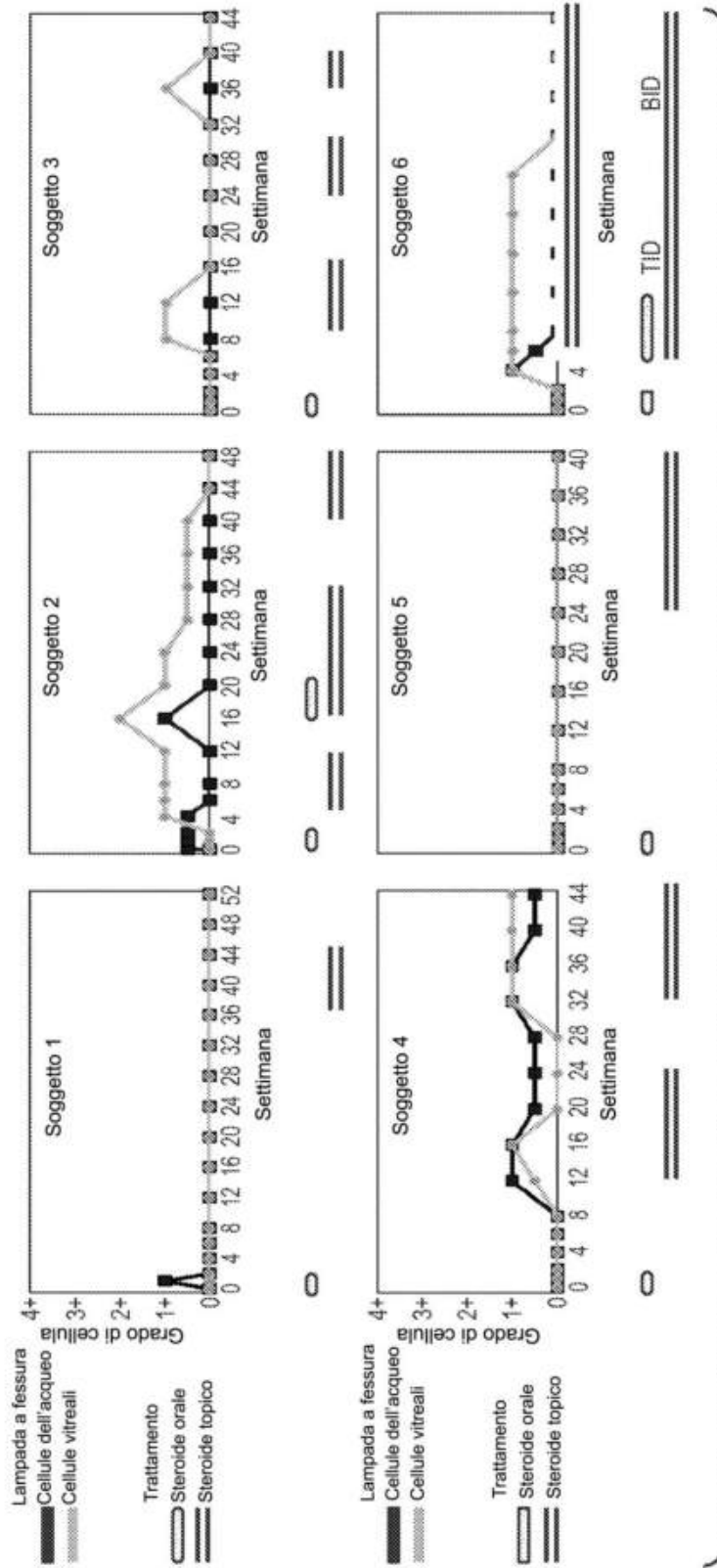


FIG. 8







	Soggetto 1: 52 settimane Post-AAV2.7m8-aflibercept	Soggetto 2: 48 settimane Post-AAV2.7m8-aflibercept	Soggetto 3: 44 settimane Post-AAV2.7m8-aflibercept
OCT al basale			
OCT più recente			
Cambiamento di BCVA dal basale, lettere ETDRS	+7	-6	-7
Cambiamento di CST dal basale, μm	+32	-29	-55

FIG. 9A







	Soggetto 4: 44 settimane* Post-AAV2.7m8-aflibercept	Soggetto 5: 40 settimane Post-AAV2.7m8-aflibercept	Soggetto 6: 40 settimane Post-AAV2.7m8-aflibercept
OCT al basale			
OCT più recente			
Cambiamento di BCVA dal basale, lettere ETDRS	+5*	-2	-3
Cambiamento di CST dal basale, μm	-117*	+4	+12

FIG. 9B

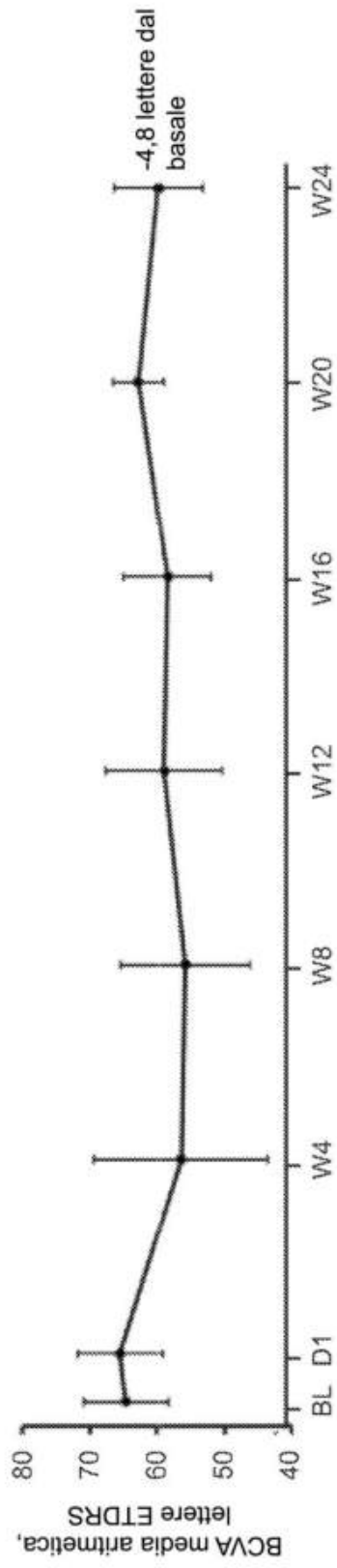


FIG. 10

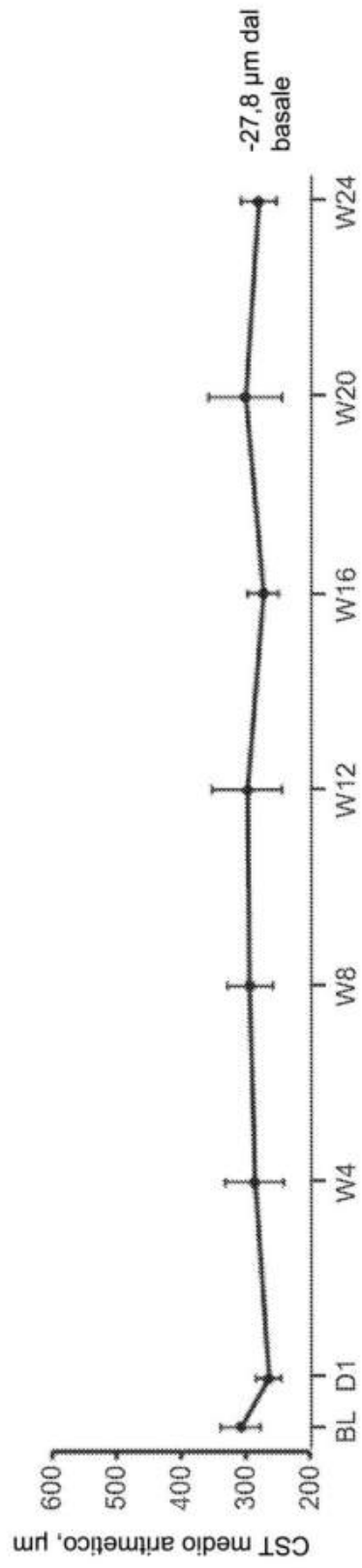


FIG. 11

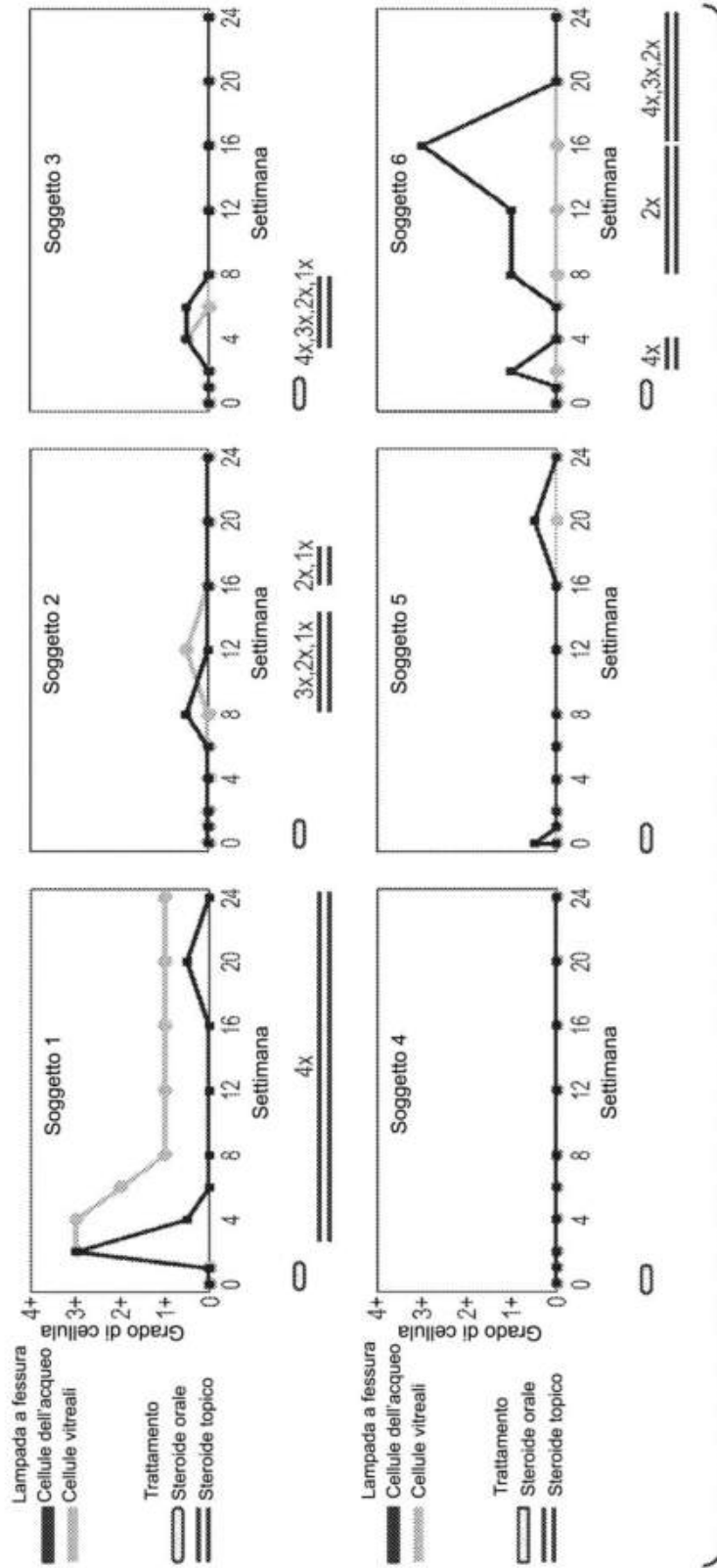


FIG. 12


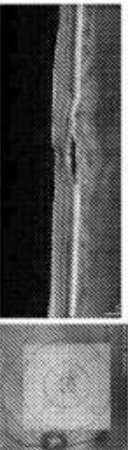

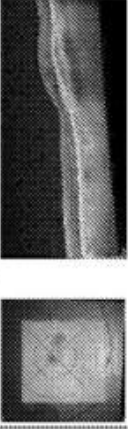


	Soggetto 1: 24 settimane Post-AAV2.7m8-afibercept	Soggetto 2: 24 settimane Post-AAV2.7m8-afibercept	Soggetto 3: 24 settimane Post-AAV2.7m8-afibercept
OCT al basale			
OCT più recente			
Cambiamento di BCVA dal basale, lettere ETDRS	-4	-1	-19*
Cambiamento di CST dal basale, μm	-8	-38	-11*
Iniezioni di IVT di salvataggio, n.	0	0	3*

FIG. 13A

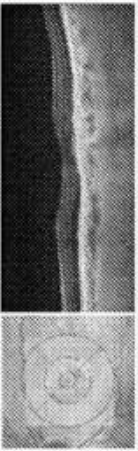



	Soggetto 4: 24 settimane Post-AAV2.7m8-afibercept	Soggetto 5: 24 settimane Post-AAV2.7m8-afibercept	Soggetto 6: 24 settimane Post-AAV2.7m8-afibercept
OCT al basale			
OCT più recente			
Cambiamento di BCVA dal basale, lettere ETDRS	-14	-7*	+16
Cambiamento di CST dal basale, μm	-16	-33*	-61
Iniezioni IVT di salvataggio, n.	0	3*	0

FIG. 13B

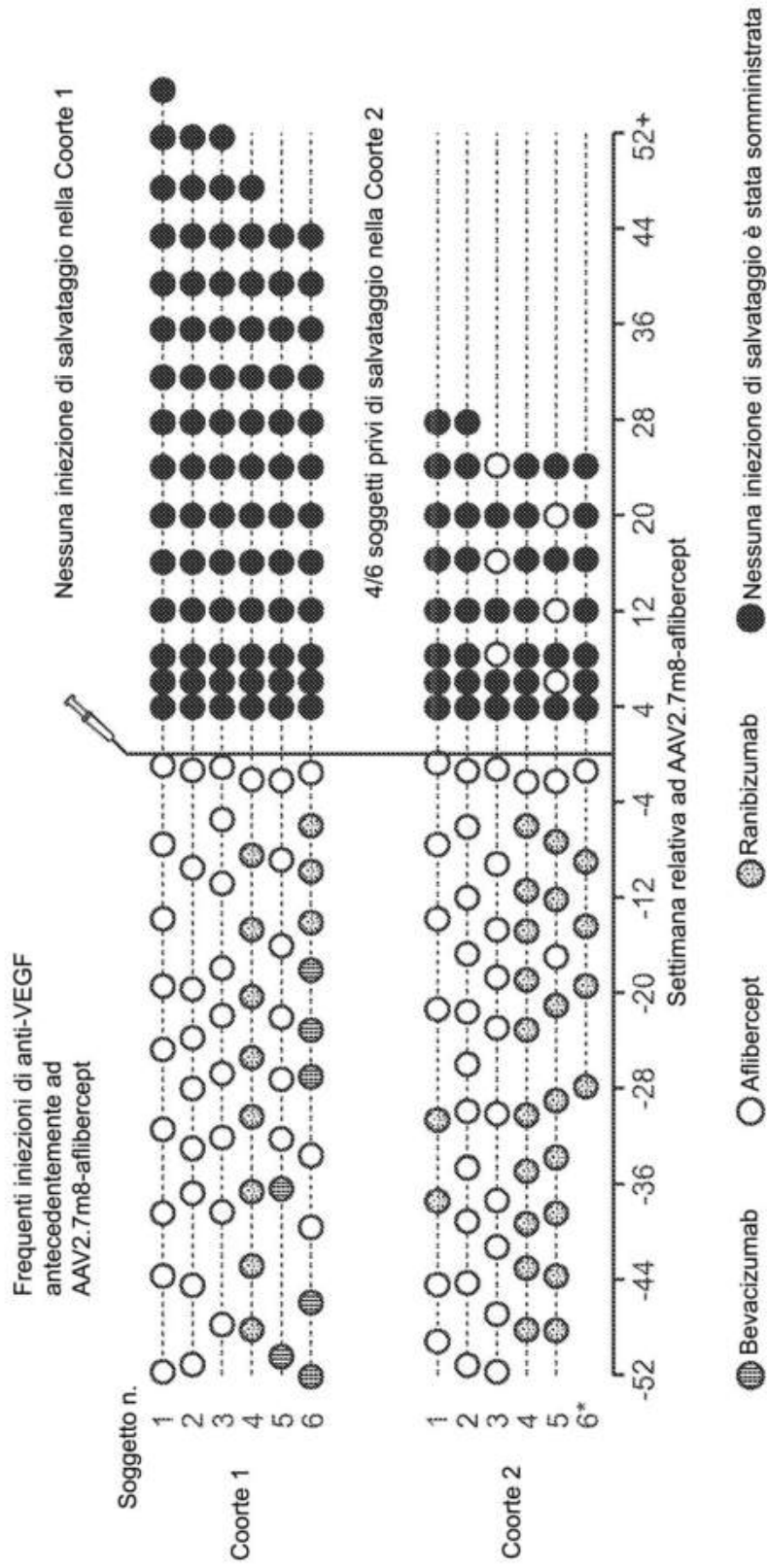


FIG. 14

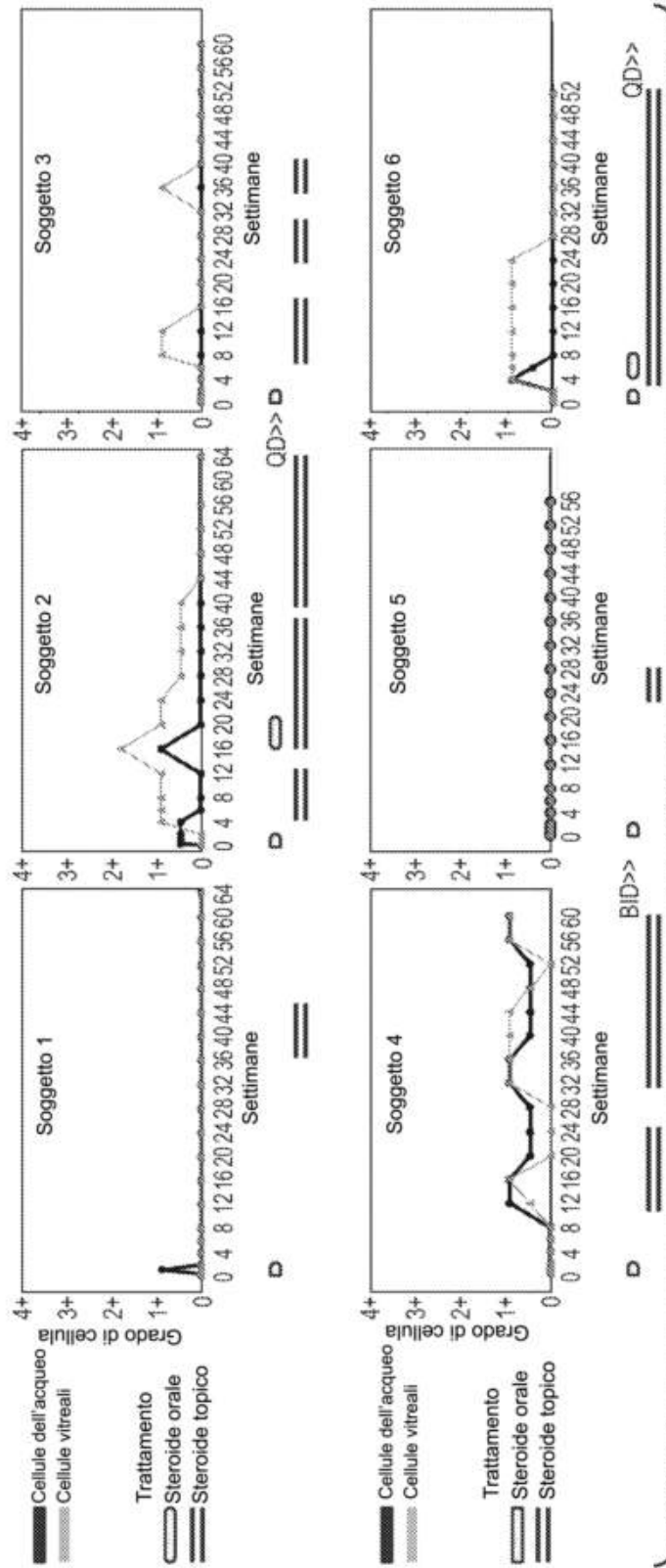


FIG. 15A

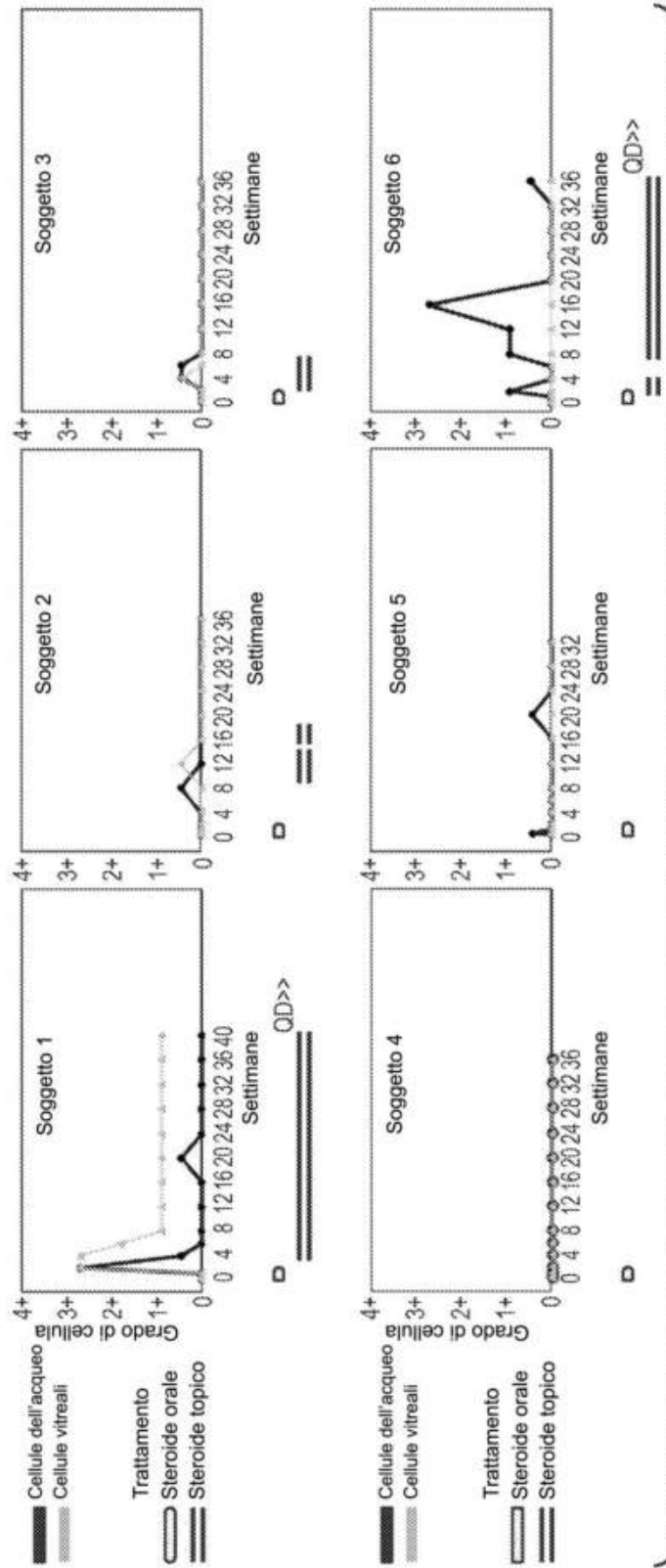


FIG. 15B

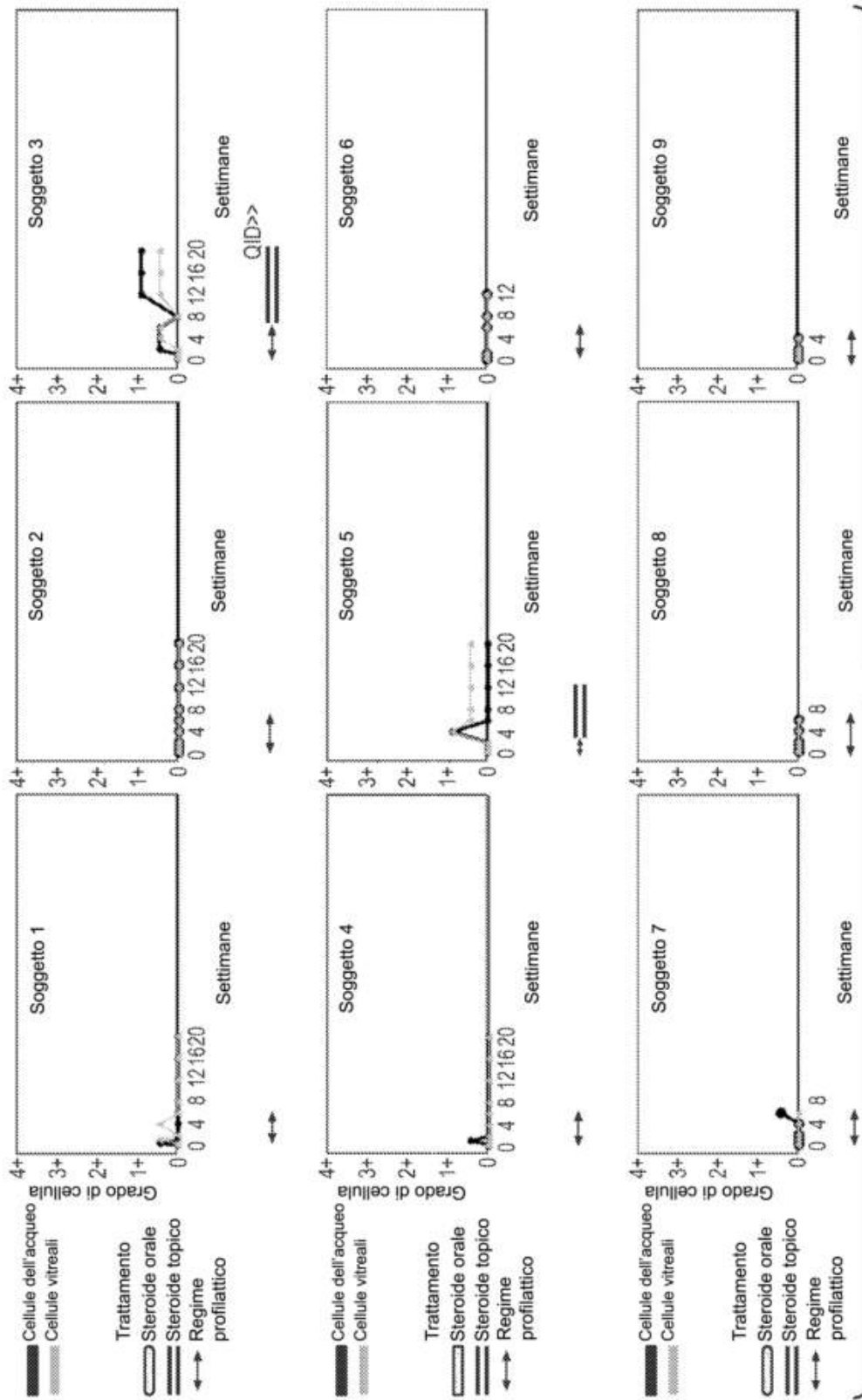


FIG. 15C

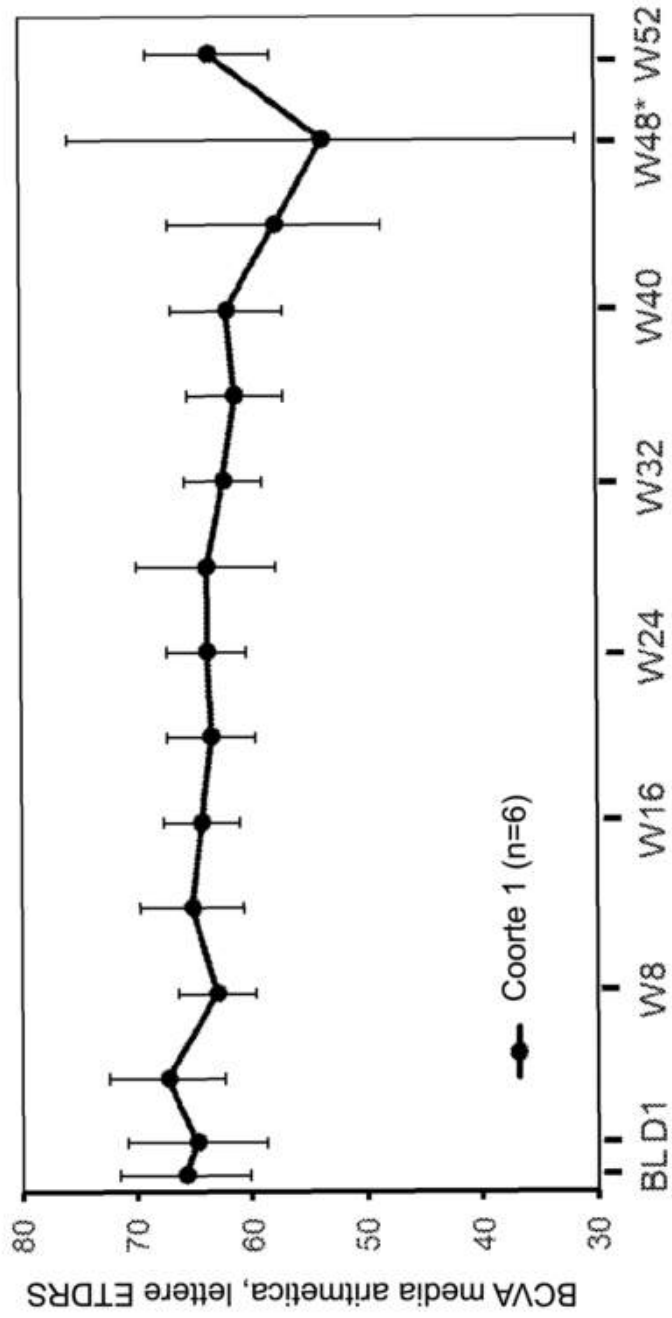


FIG. 16A

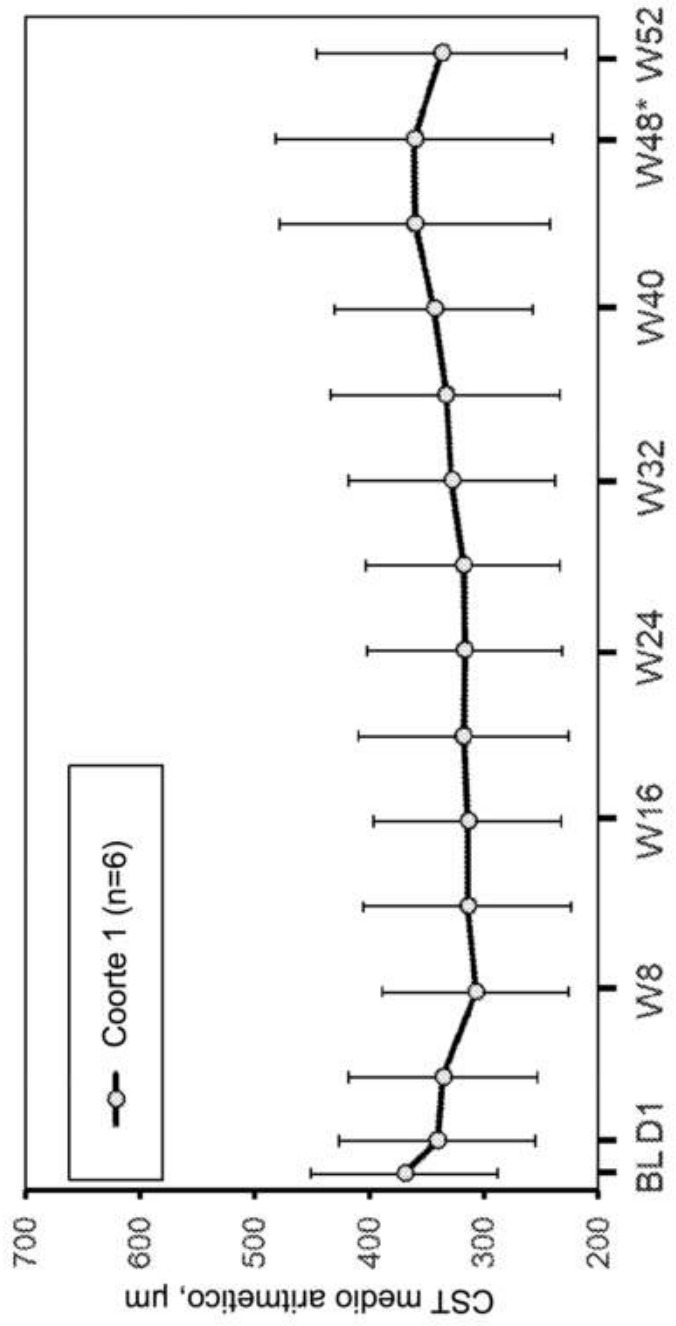


FIG. 16B

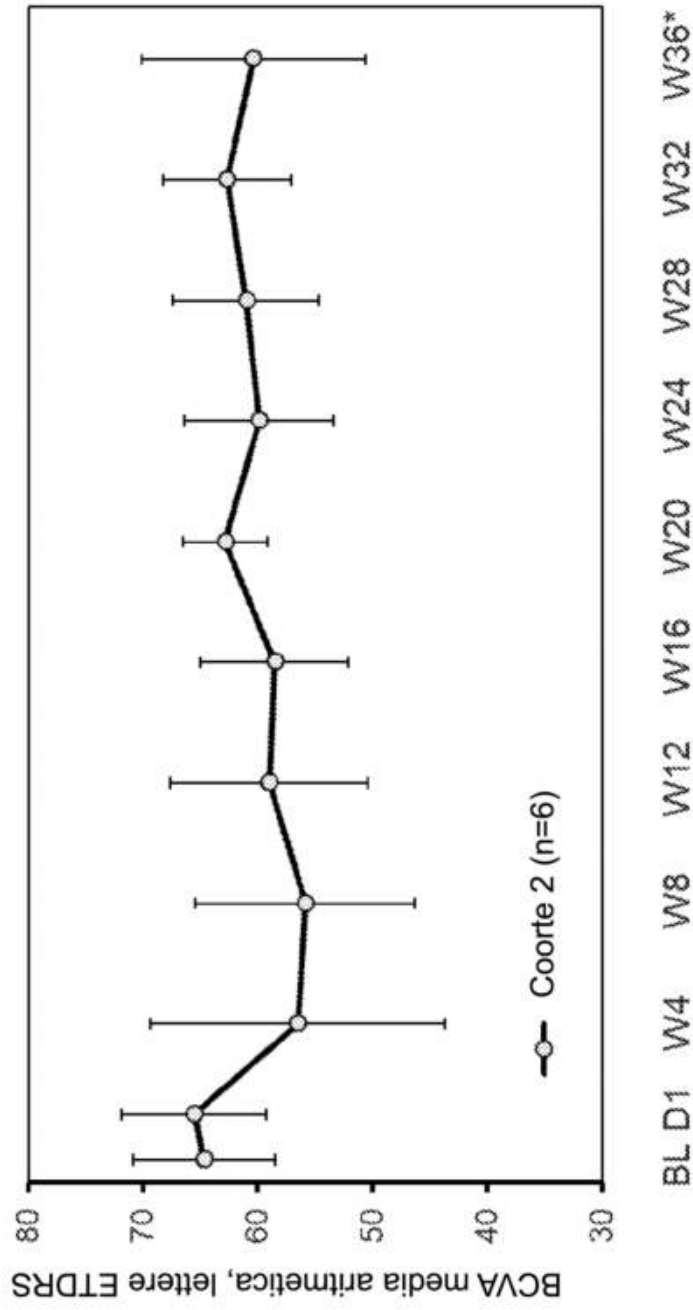


FIG. 17A

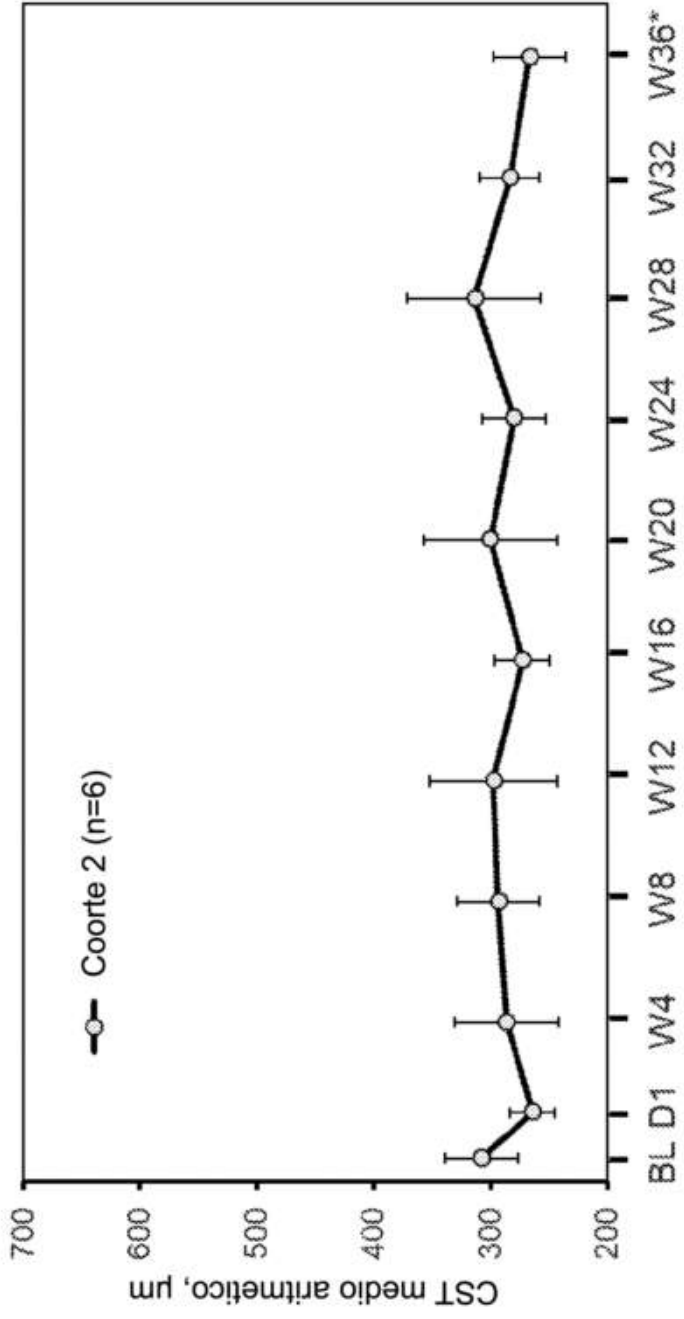


FIG. 17B

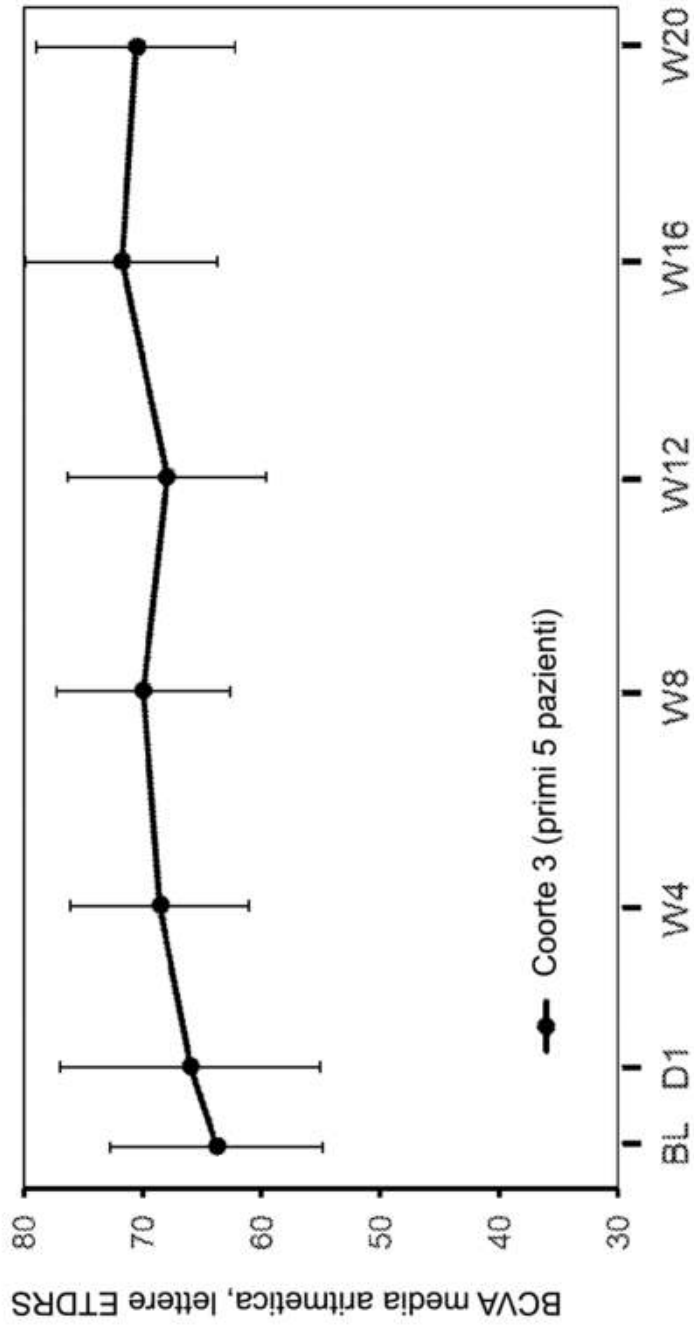


FIG. 18A

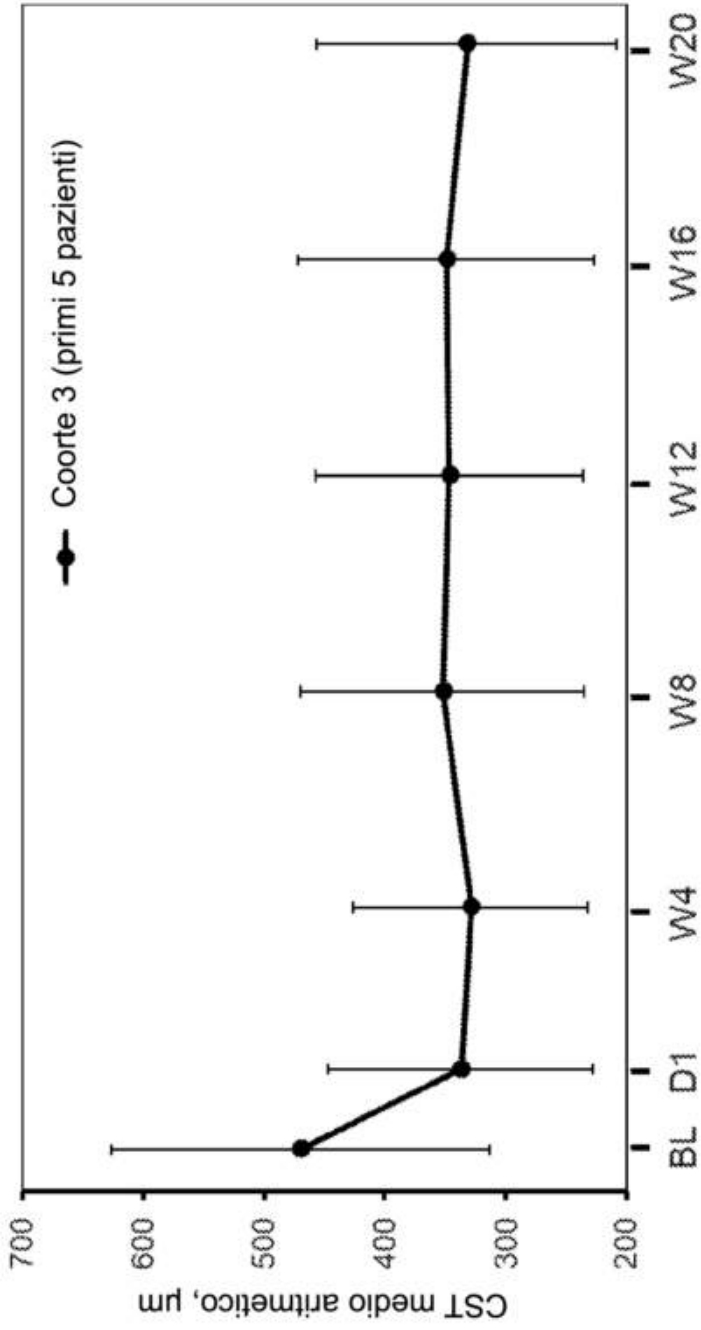


FIG. 18B

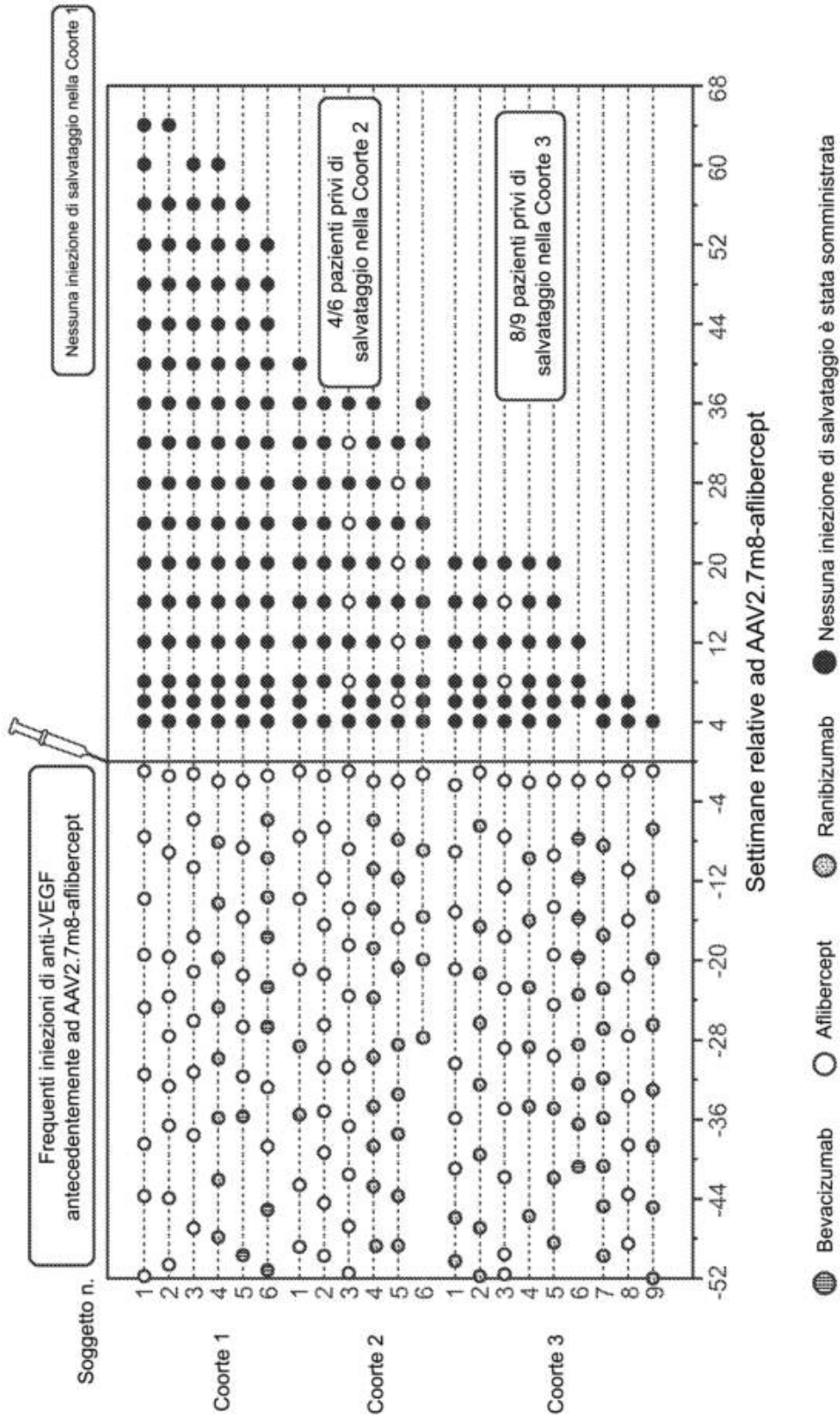


FIG. 19

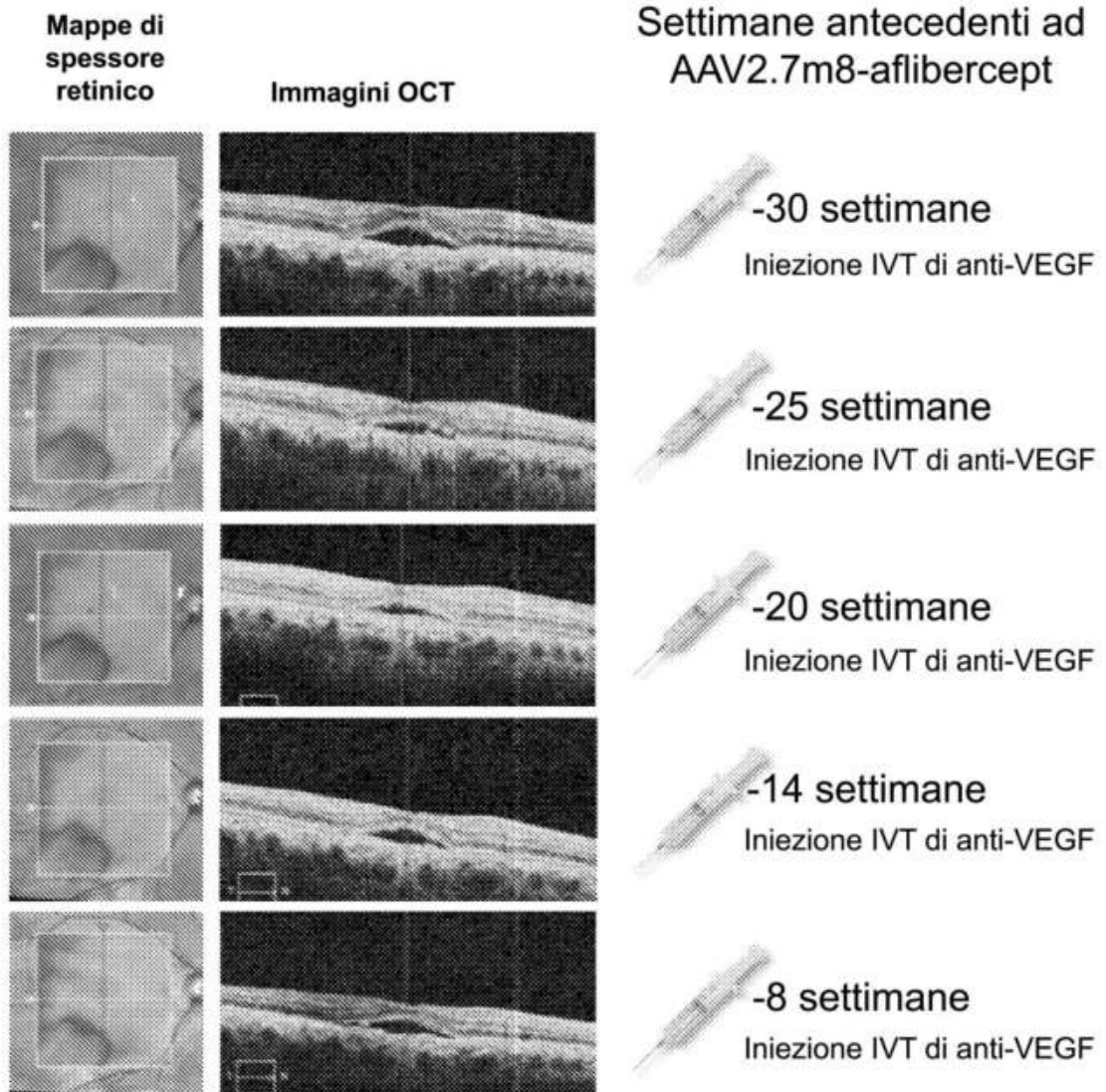


FIG. 20A

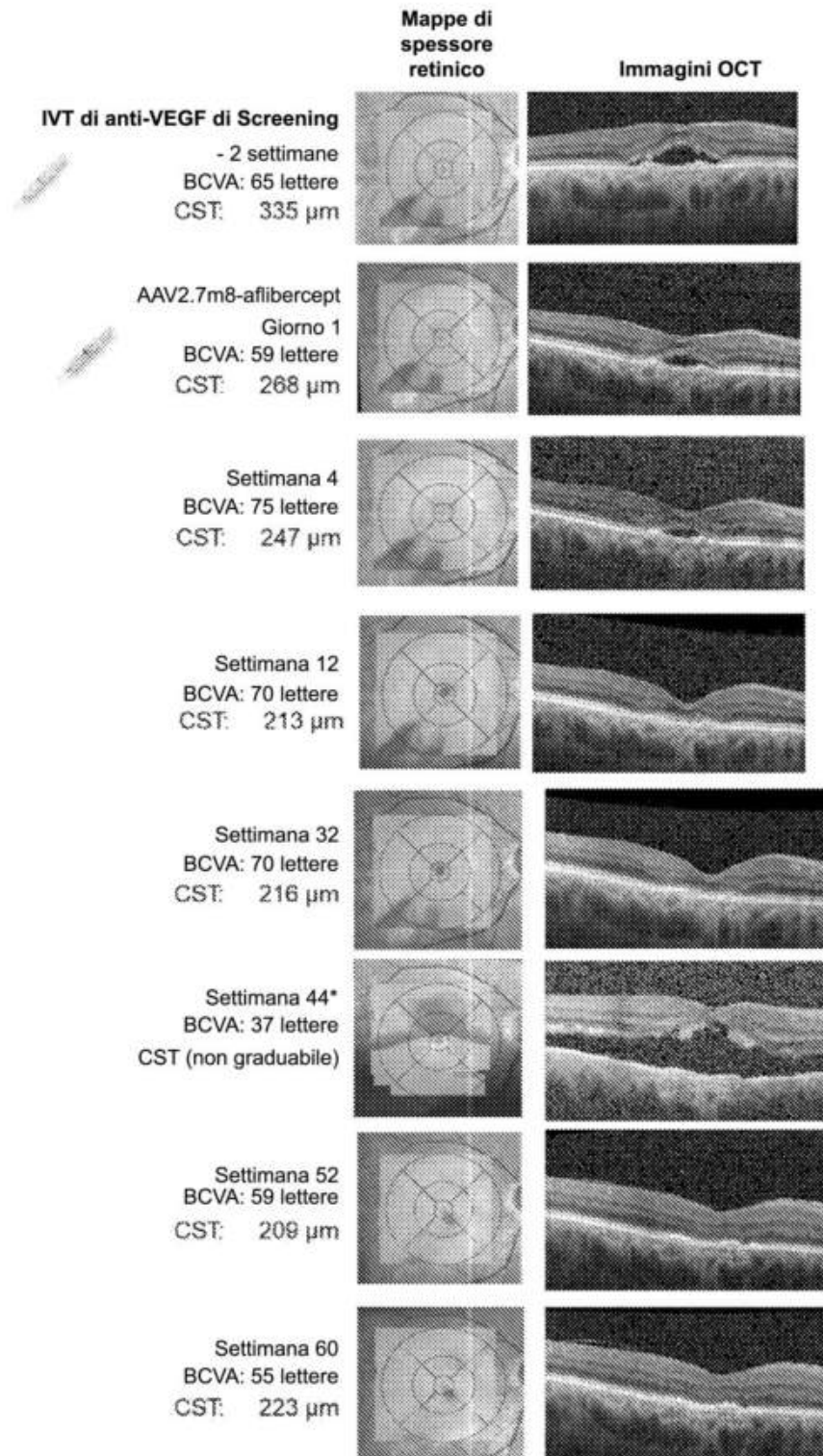
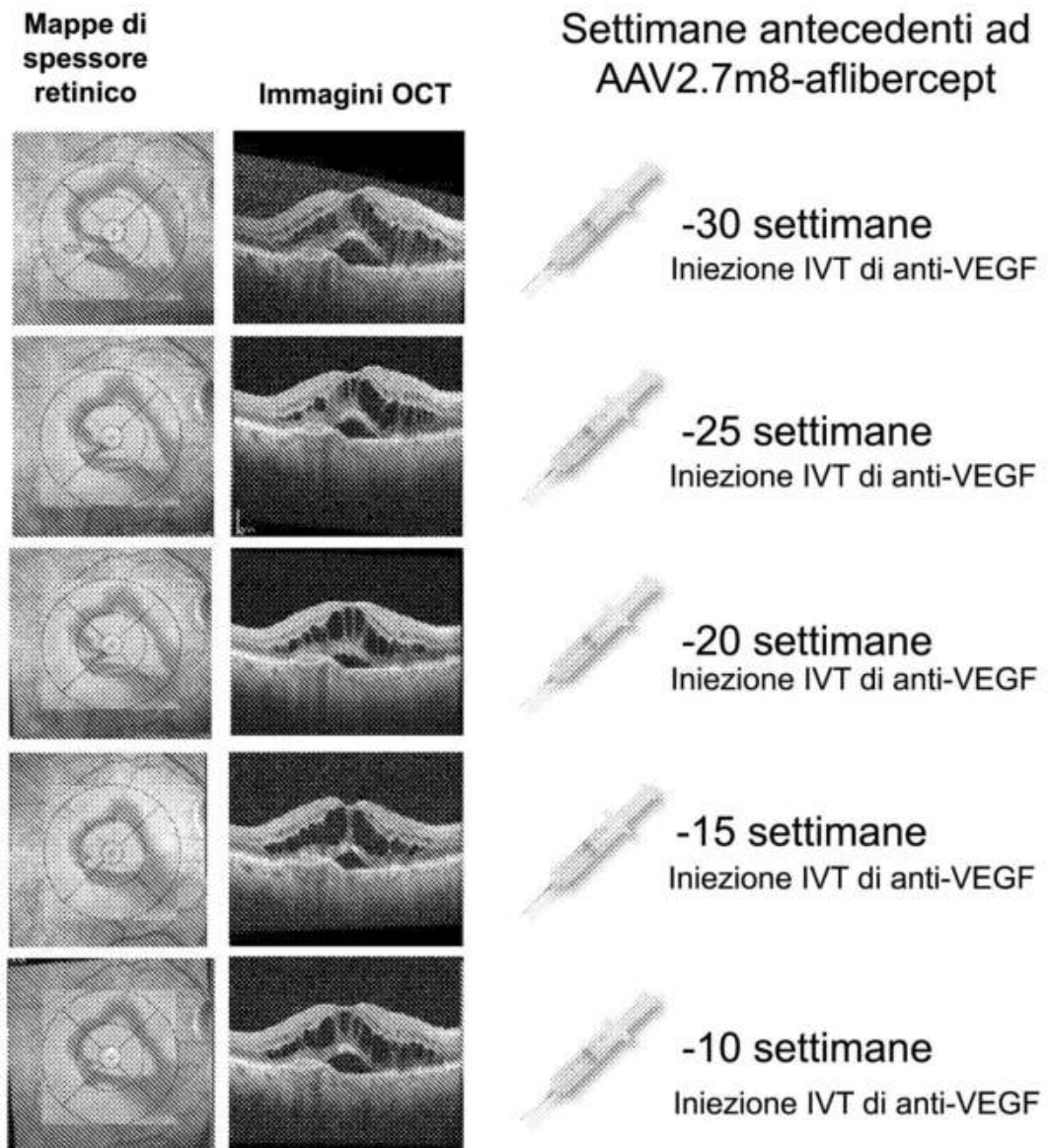


FIG. 20B

**FIG. 21A**

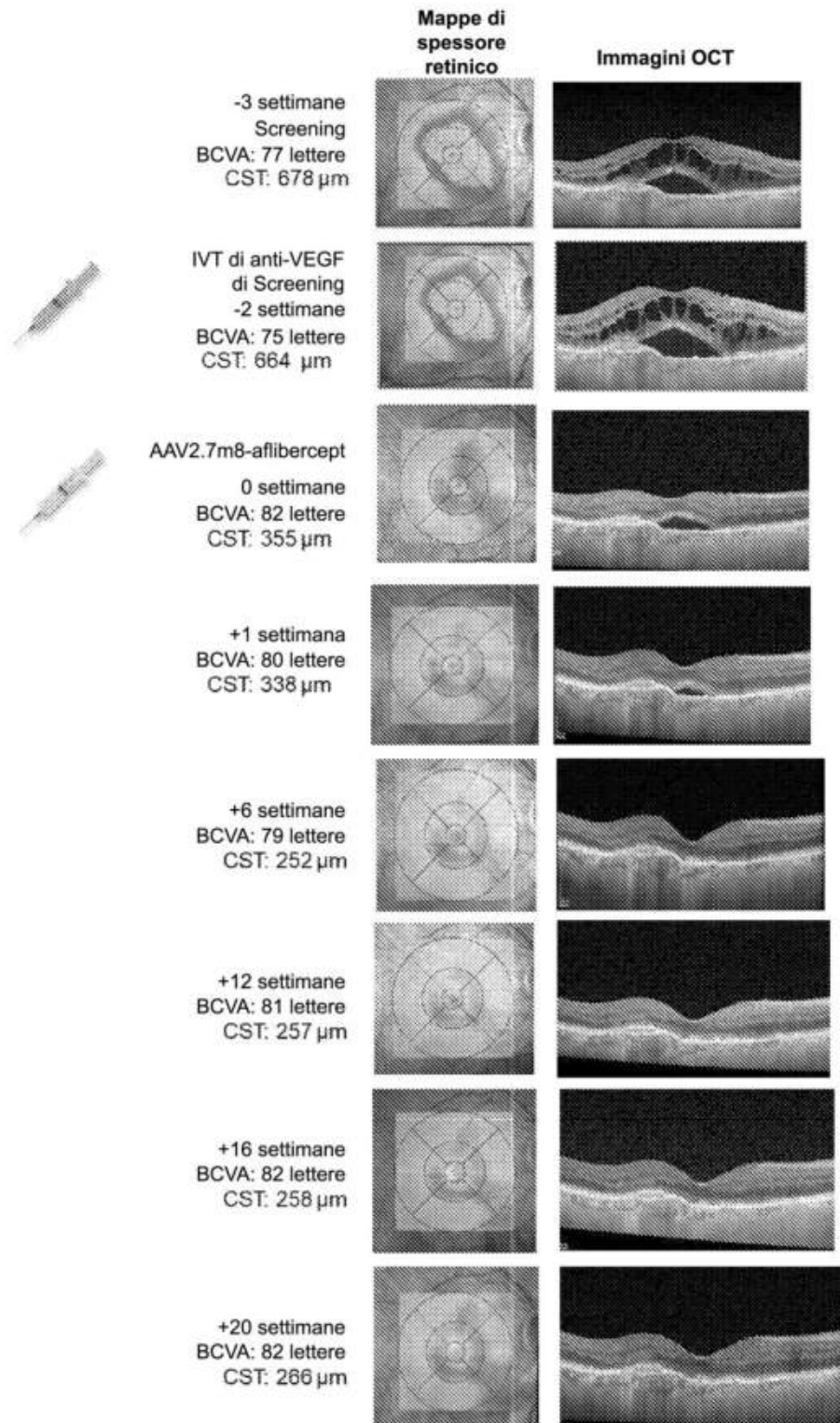


FIG. 21B

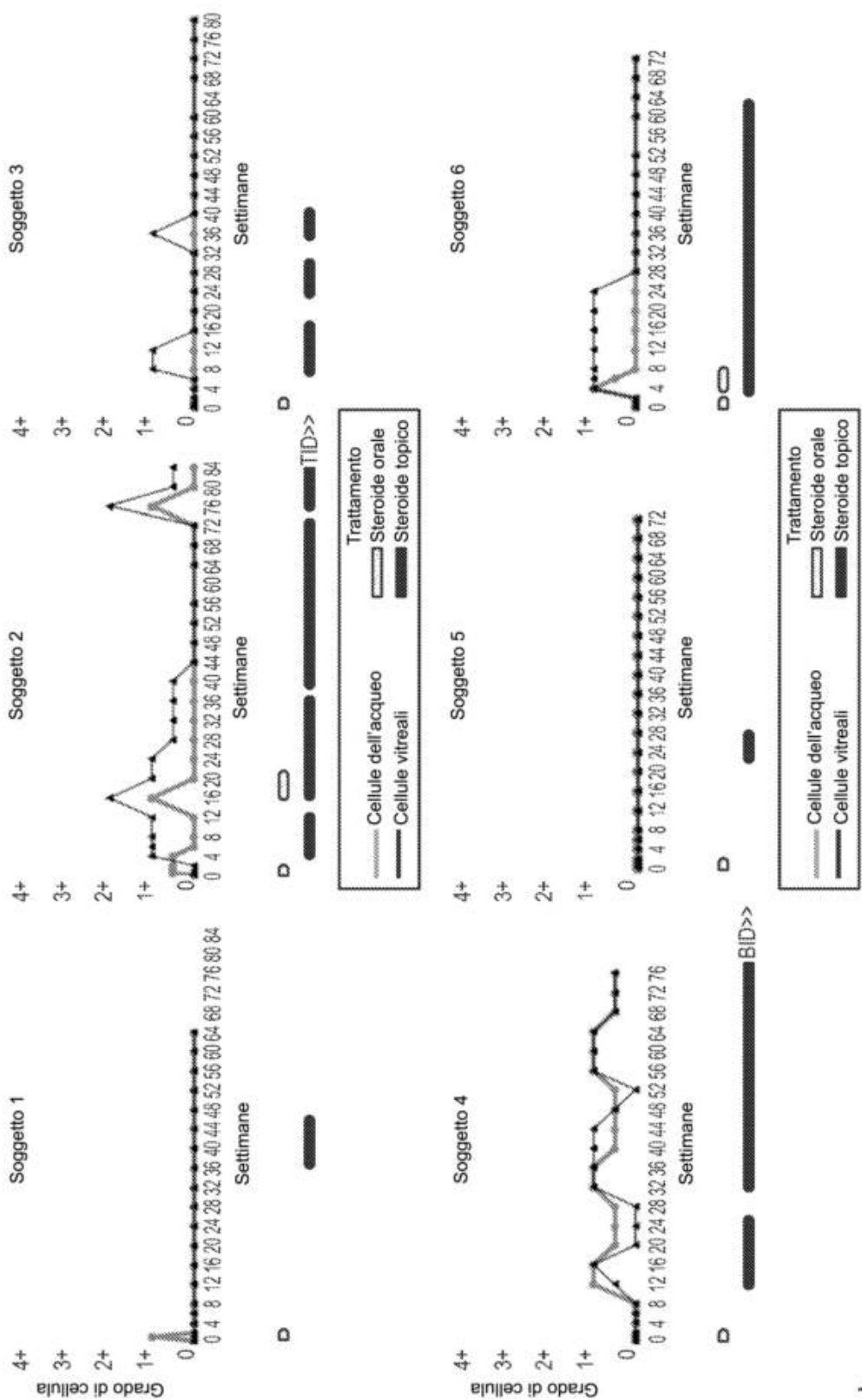


FIG. 22A

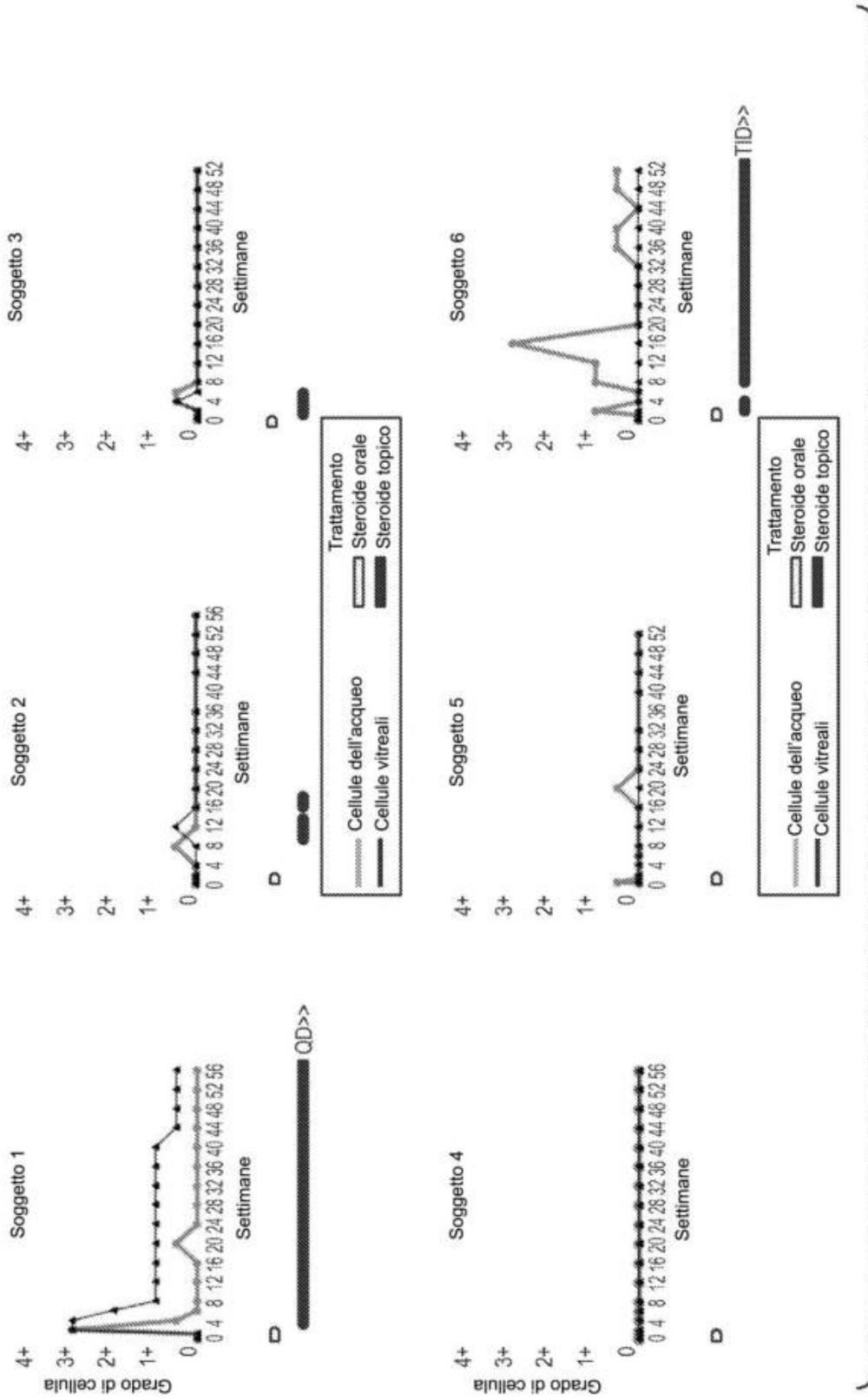


FIG. 22B

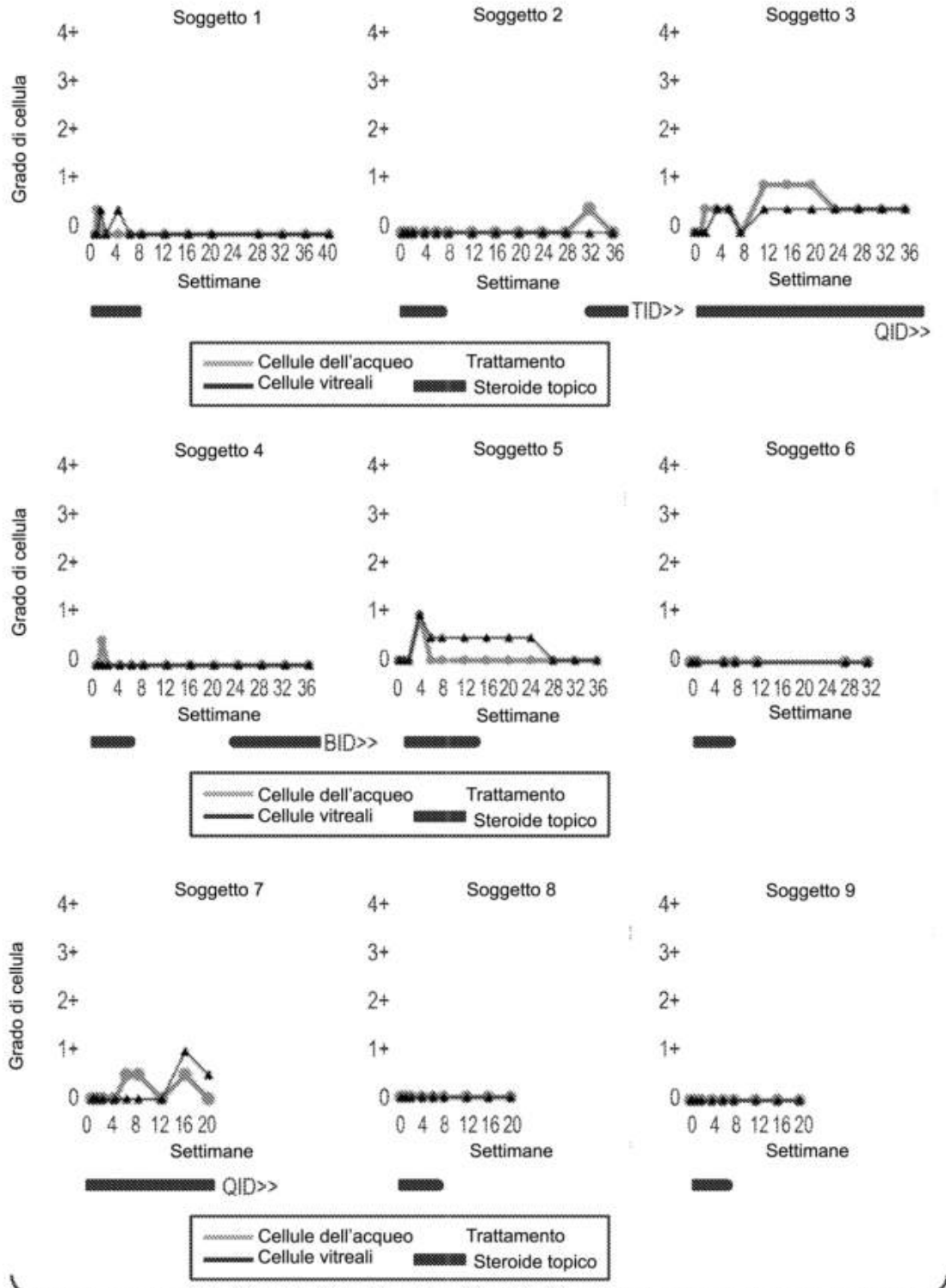


FIG. 22C

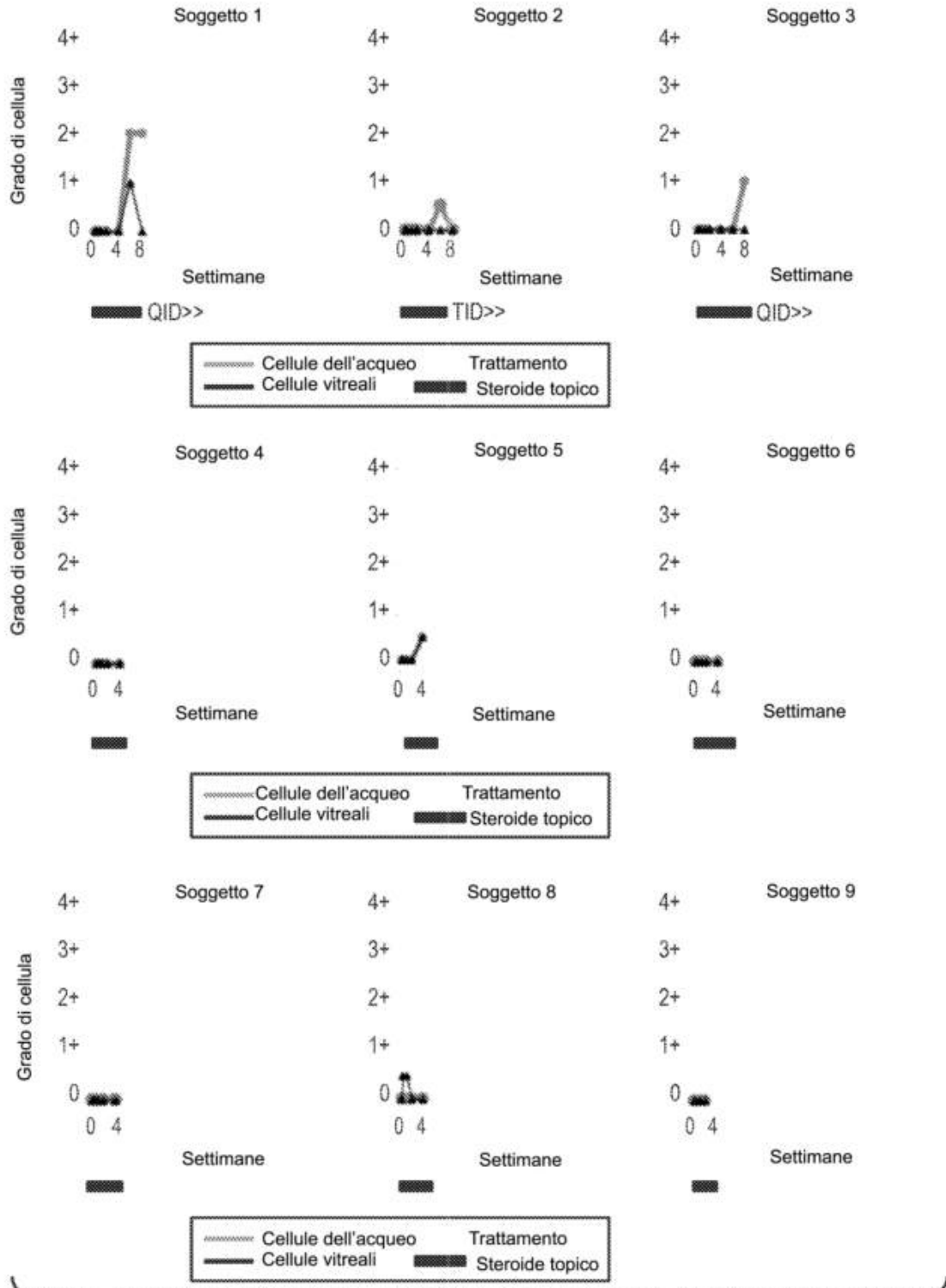


FIG. 22D

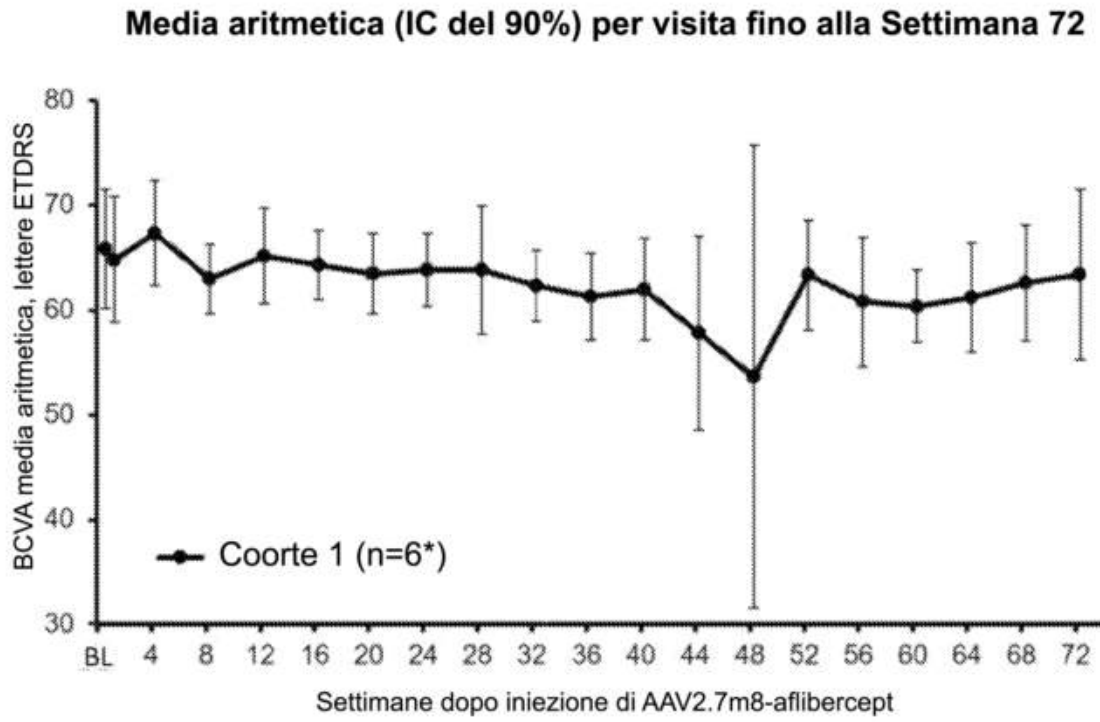
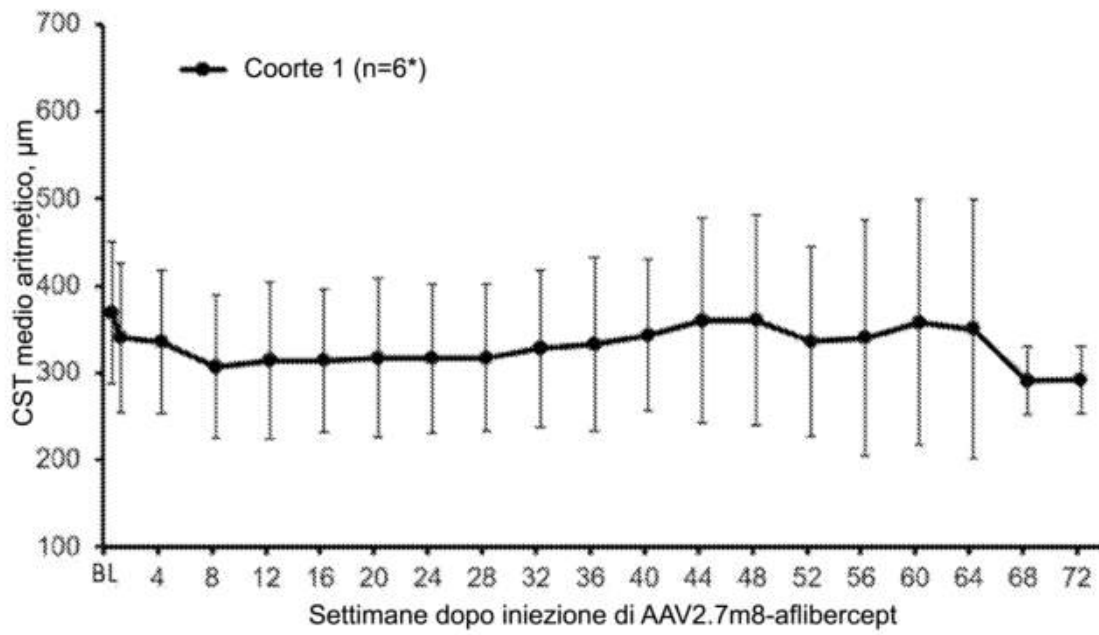


FIG. 23A

Media aritmetica (IC del 90%) per visita fino alla Settimana 72**FIG. 23B**

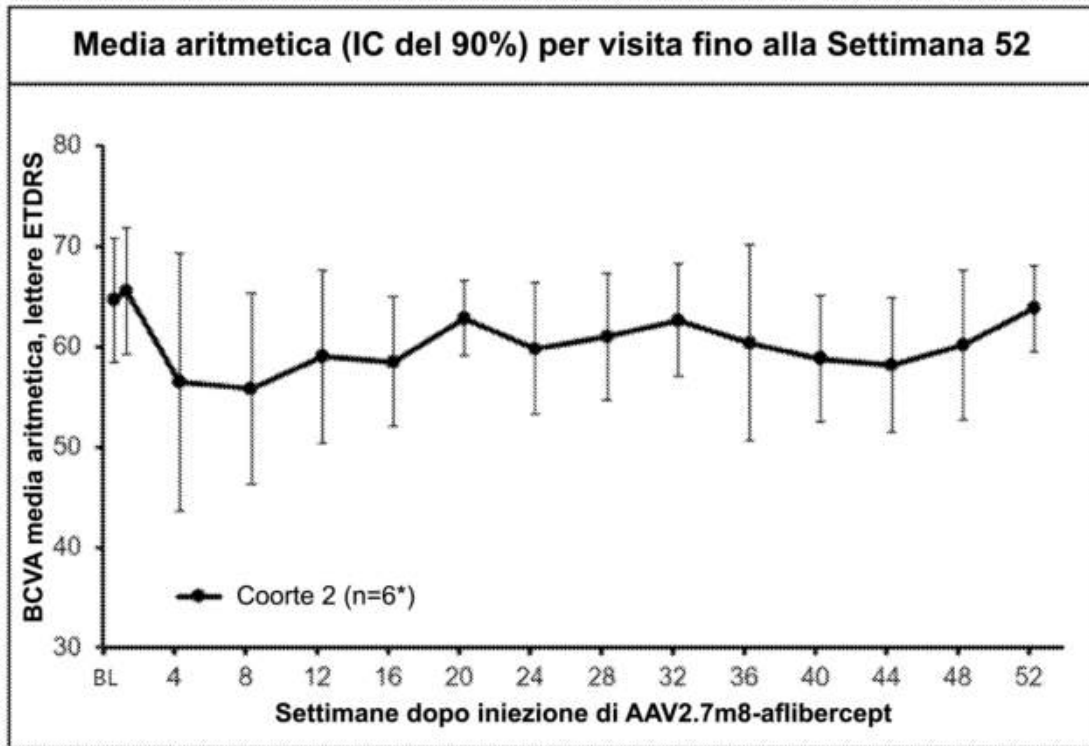


FIG. 24A

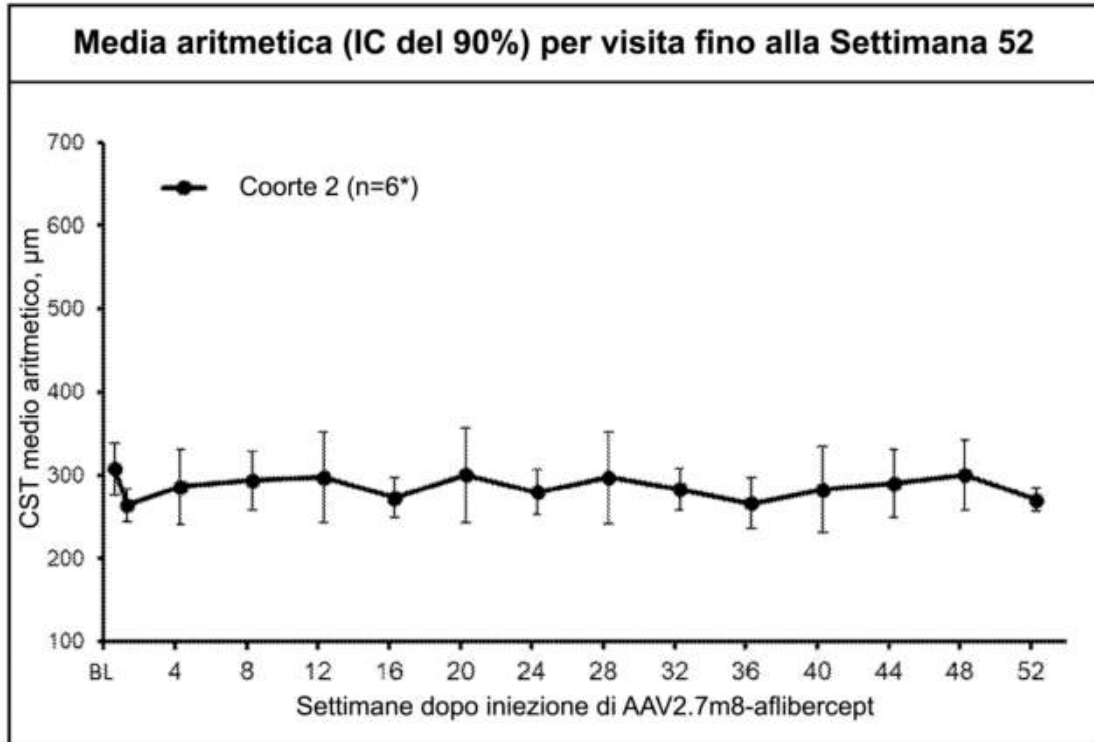


FIG. 24B

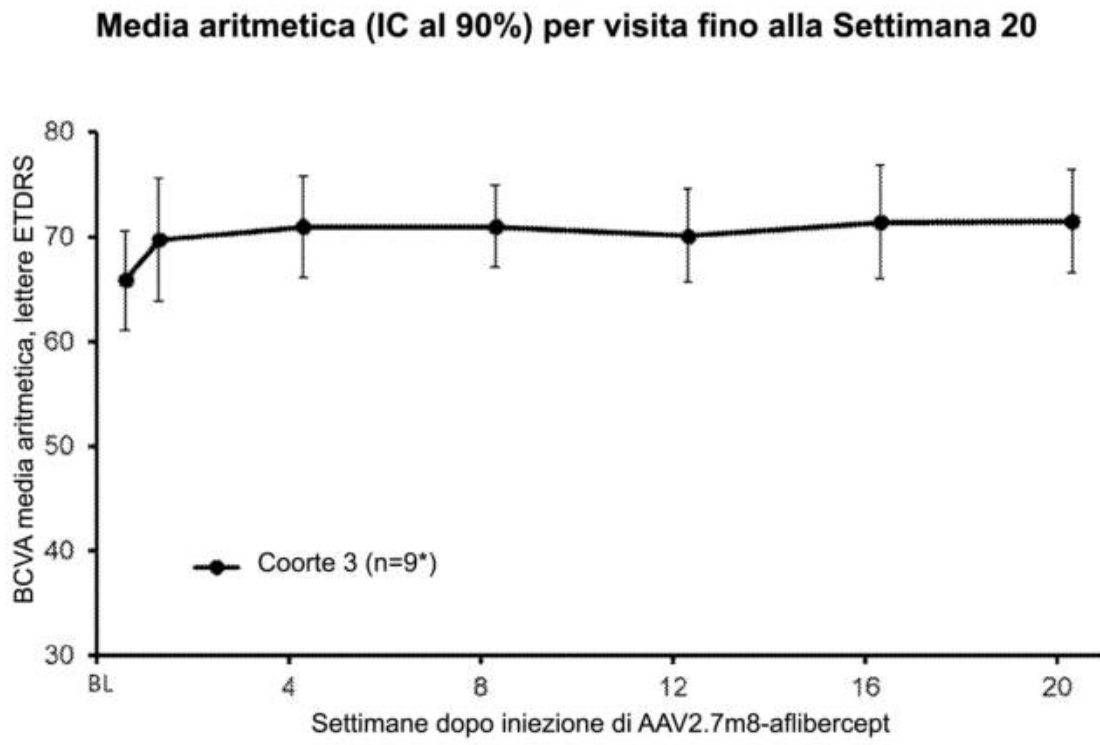
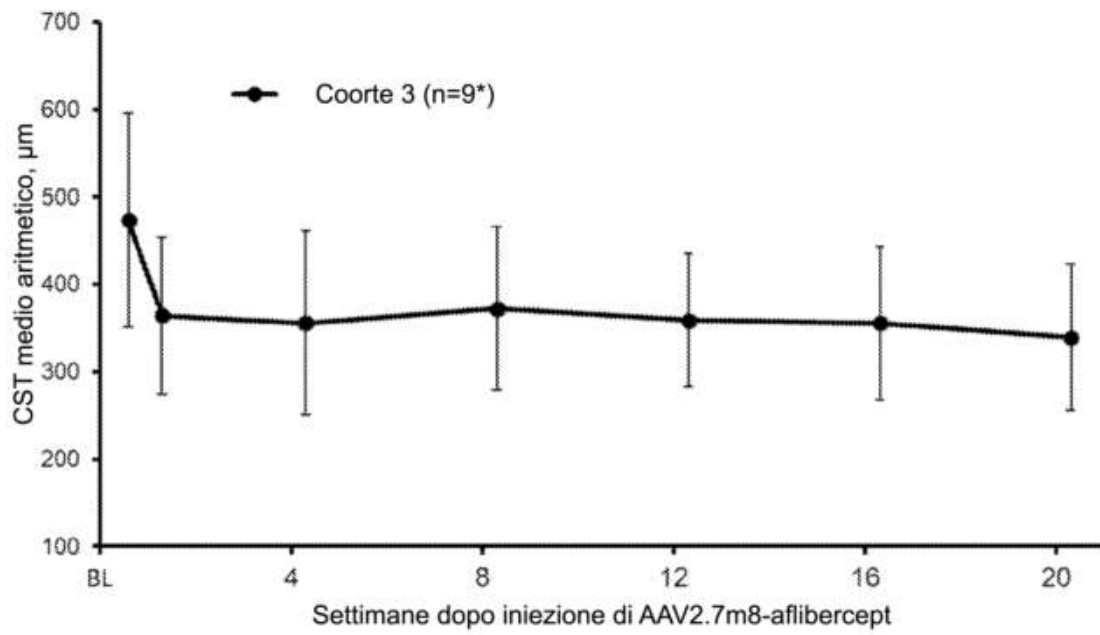


FIG. 25A

Media aritmetica (IC al 90%) per visita fino alla Settimana 20**FIG. 25B**

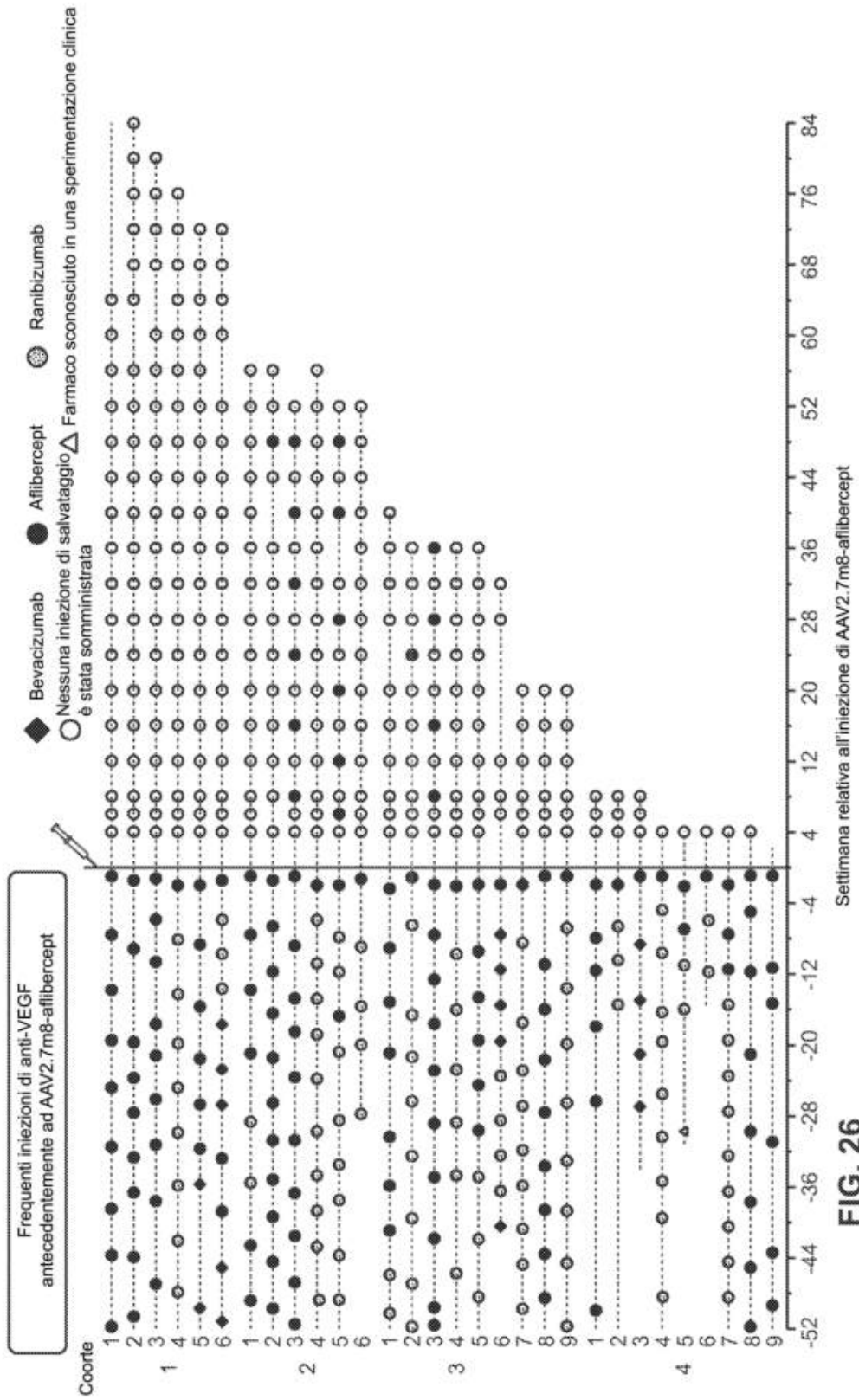


FIG. 26

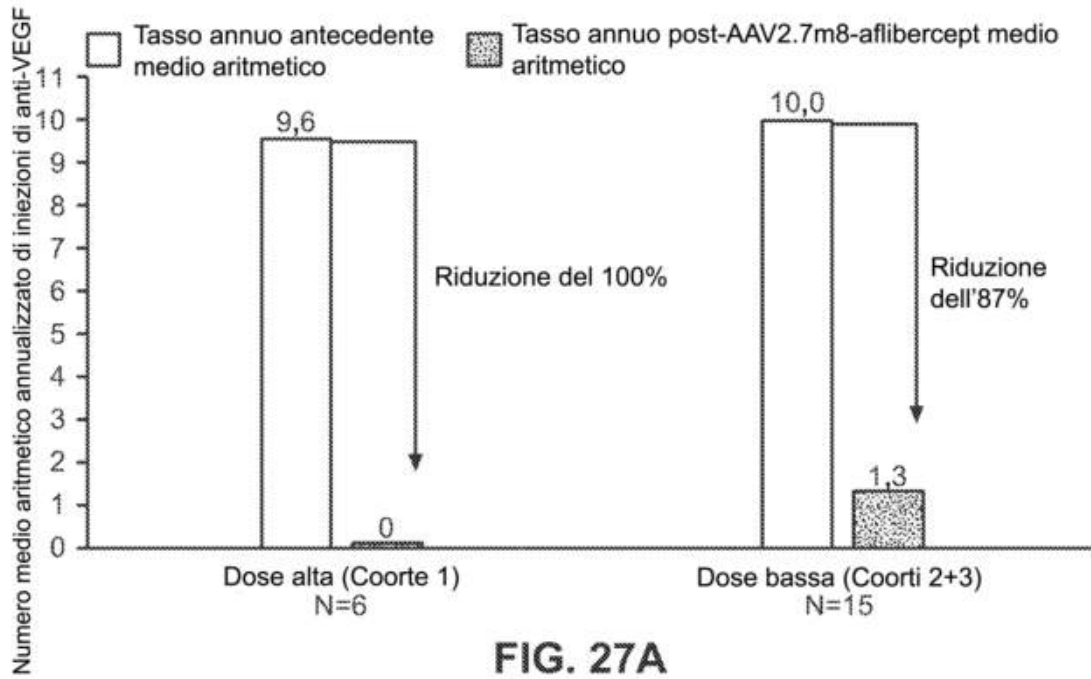


FIG. 27A

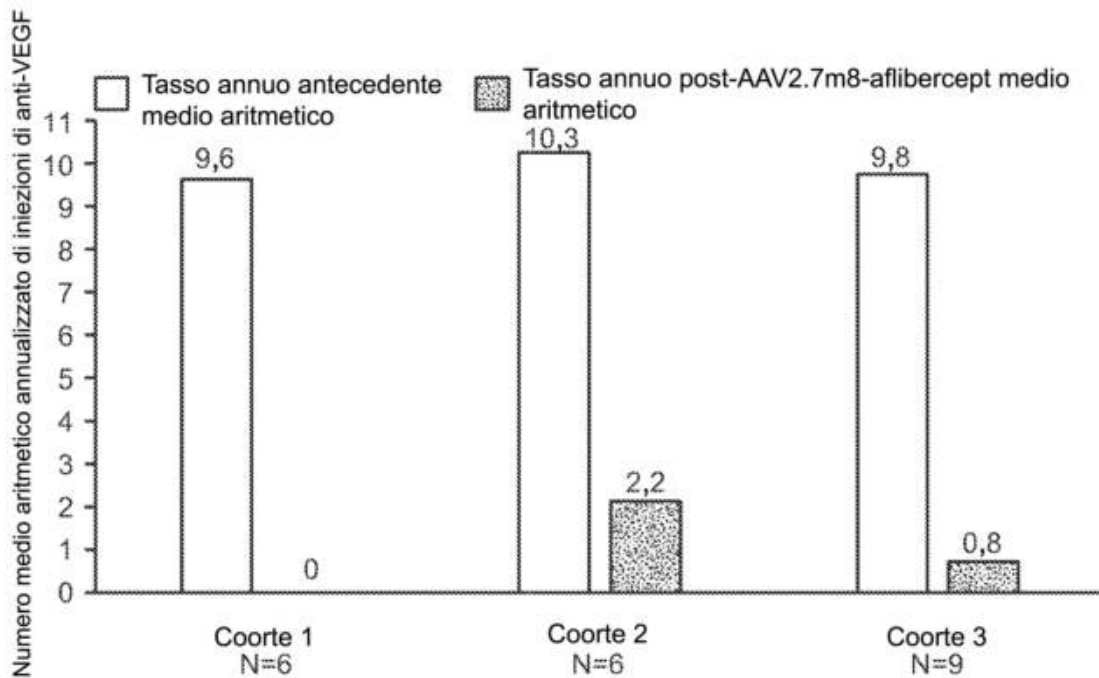
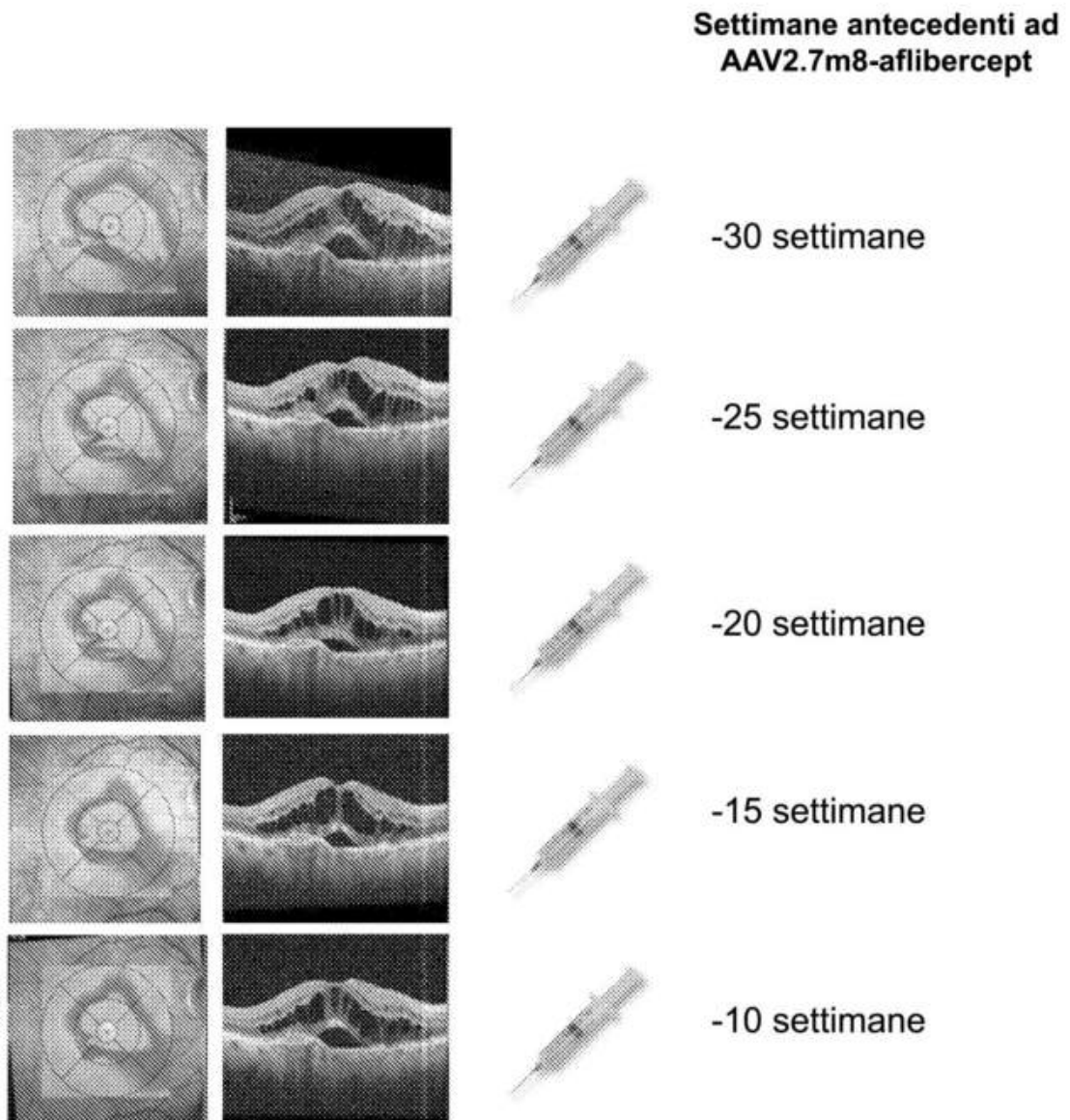


FIG. 27B

**FIG. 28A**

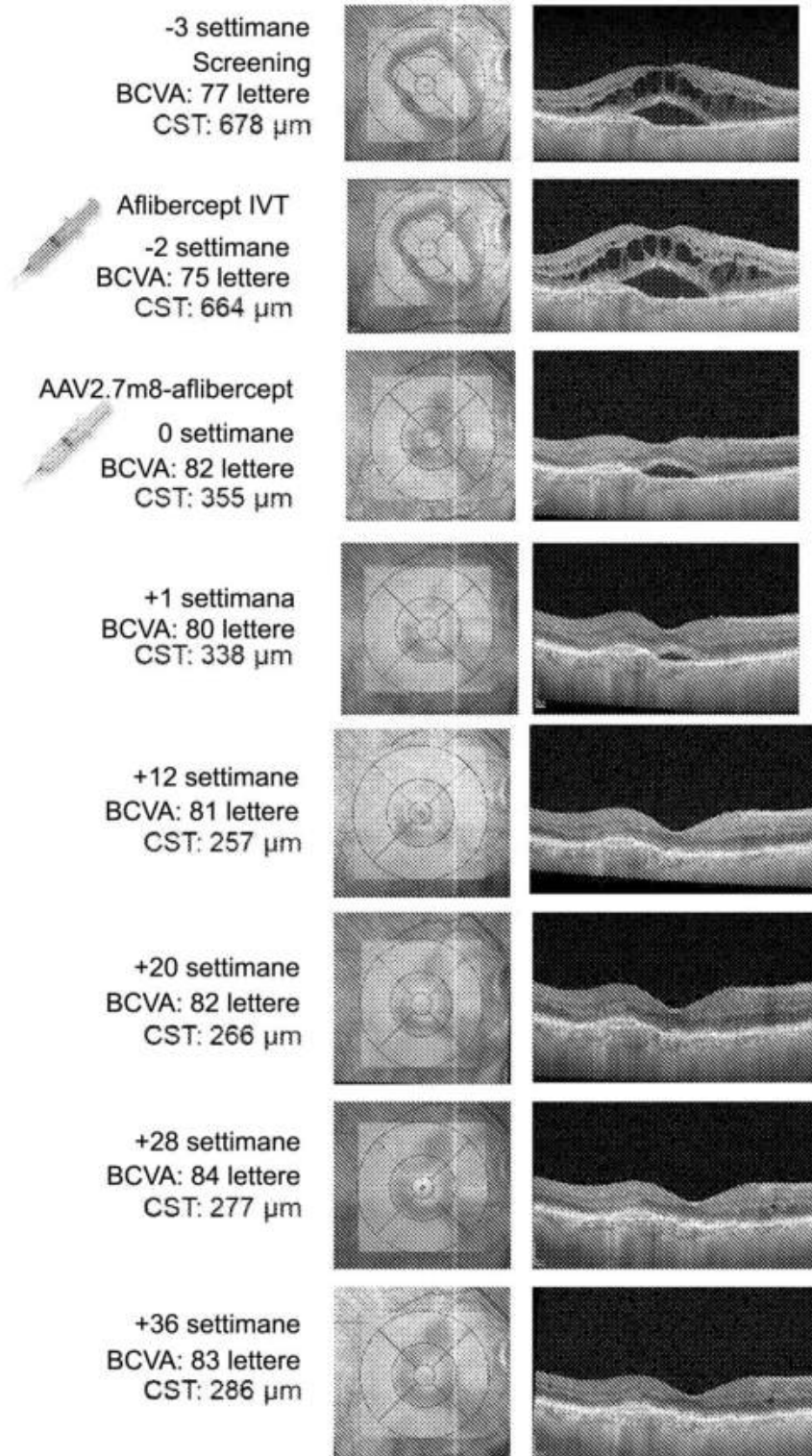


FIG. 28B

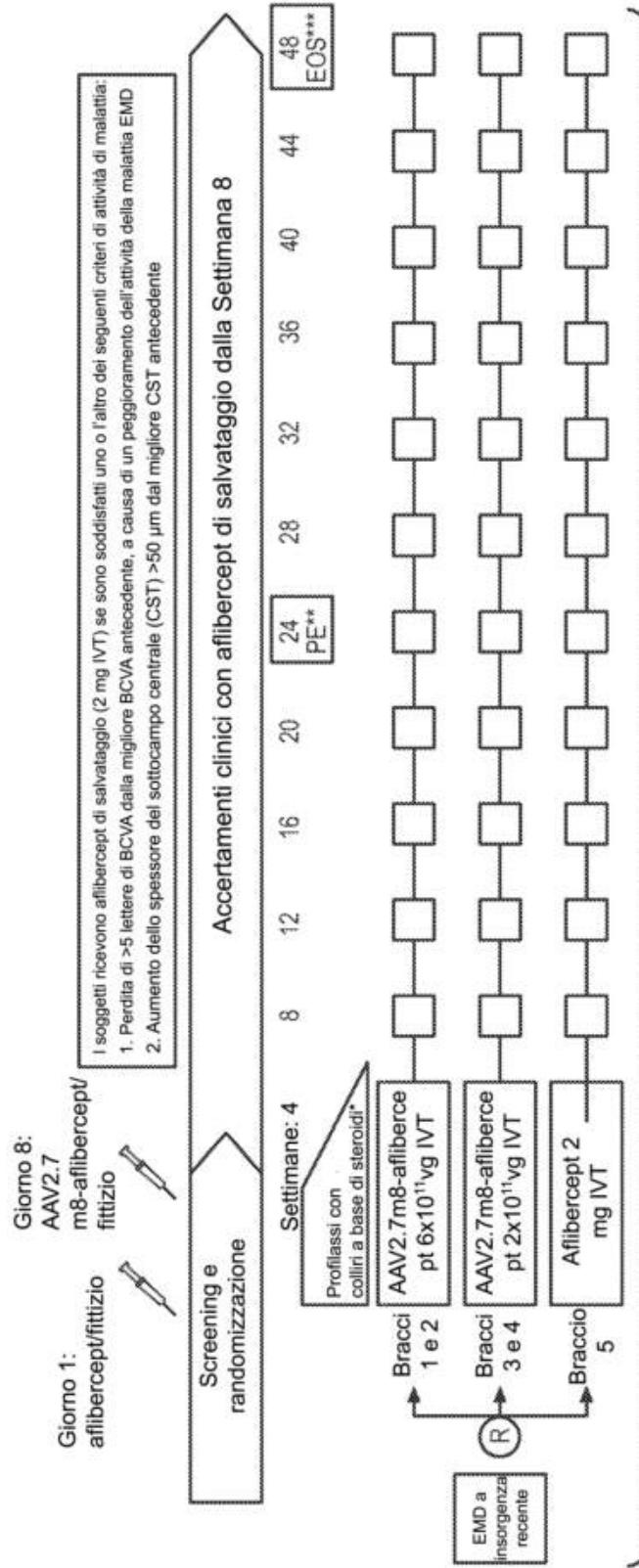


FIG. 29